



**Erika Judith Cardoso  
Rodrigues Davim**

**Suportes porosos vítreos do sistema  
Si-Ca-P-Mg para aplicações biomédicas**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Biomédica – Ramo Biomateriais, realizada sob a orientação científica da Dra. Maria Helena Figueira Vaz Fernandes, Professora Auxiliar do Departamento de Cerâmica e do Vidro da Universidade de Aveiro e da Dra. Ana Maria Oliveira da Rocha Senos, Professora Auxiliar do mesmo departamento.



## **o júri**

presidente

Doutora Maria Helena Vaz Fernandes, Professora Associada da Universidade de Aveiro. (orientadora)

Doutor Rui Ramos Ferreira e Silva, Professor Associado da Universidade de Aveiro

Doutora Maria Ascensão Ferreira da Silva Lopes, Professora Auxiliar da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.

Doutora Ana Maria de Oliveira e Rocha Senos, Professora Auxiliar da Universidade de Aveiro. (orientadora)





## **agradecimentos**

Em primeiro lugar gostaria de expressar a minha gratidão, à minha orientadora científica professora Doutora Maria Helena Fernandes, pela oportunidade de trabalho concedida, pelo incentivo e pela confiança em mim depositada na realização deste projecto.

Merece igualmente menção muito especial o atencioso acompanhamento da professora Doutora Ana Senos, co-orientadora deste trabalho.

A ambas agradeço imensamente pela disponibilidade permanente para o esclarecimento de dúvidas e resolução de problemas no desenvolvimento deste trabalho. Obrigada por todos os ensinamentos, pela convivência e, acima de tudo, pela sincera amizade demonstrada.

Ao meu marido, Filipe, pelo amor, carinho e incentivo ao longo deste percurso.

Aos meus pais e irmã por sempre respeitarem e apoiarem as escolhas que fiz ao longo de toda a minha vida.

Aos amigos de sempre, em especial às Carlas, à Susana e à Ana Sofia, pelo apoio e momentos de descontração.

Aos colegas de laboratório de biomateriais, pela ajuda e troca de ideias.

Ao Prof. Doutor Christian Rüssel pela disponibilidade e discussão de ideias.

À Dra. Júlia Serra e aos técnicos do CACTI da Universidade de Vigo pela disponibilidade, pela simpática recepção e ajuda na execução da técnica de FTIR.

Aos técnicos do Departamento de Engenharia Cerâmica e do Vidro da Universidade de Aveiro que mais directamente colaboraram neste trabalho: Eng.<sup>a</sup> Conceição, Eng.<sup>o</sup> Jorge, Eng.<sup>a</sup> Marta Ferro e Eng.<sup>a</sup> Célia pela amizade e disponibilidade para ajudar na realização das análises necessárias.

A todas as pessoas que directa ou indirectamente contribuíram para que esta etapa da minha formação académica fosse alcançada e que aqui não são nomeadas.



## Palavras-chave

Estruturas porosas, vidro, sinterização, lixiviação do sal.

## Resumo

Na reparação e regeneração de tecido ósseo torna-se cada vez mais atraente o recurso a suportes porosos temporários capazes de interagir com o organismo, através de respostas específicas que conduzam à formação de novo osso.

O presente trabalho teve como objectivo produzir estruturas porosas a partir de composições vítreas, com uma composição que, em trabalhos anteriores, mostrou ter características bioactivas, com reactividade superficial específica em fluidos fisiológicos sintéticos.

Os suportes foram obtidos por sinterização de uma mistura de vidro, de composição ponderal 54.89%  $3\text{CaO.P}_2\text{O}_5$  – 24.81%  $\text{SiO}_2$  – 20.30%  $\text{MgO}$  com um sal,  $\text{NaCl}$ , cuja granulometria e quantidade determinam as características da porosidade aberta dos suportes, após lixiviação.

Investigaram-se neste trabalho algumas das variáveis de processamento, nomeadamente, a quantidade de sal, mantendo a sua granulometria constante, o valor da pressão de prensagem usada na conformação e a velocidade de aquecimento, temperatura máxima e tempo de patamar, no ciclo de sinterização. Investigou-se, ainda, a possibilidade de reacção entre o sal e o vidro durante a sinterização e o efeito das inclusões de sal na cinética de sinterização da matriz vítrea. A “janela de trabalho” para a sinterização dos compactos da mistura vidro-sal revelou-se estreita em termos de gama de temperaturas e a retracção total severamente limitada. Para estes efeitos contribuíram a reacção entre o sal e o vidro durante o aquecimento, com desenvolvimento de produtos gasosos e desestruturação da superfície das partículas de vidro, a presença das partículas de sal que actuam como inclusões rígidas na matriz vítrea e a cristalização um pouco mais precoce do vidro.

O estudo do processamento dos suportes porosos permitiu seleccionar as condições mais adequadas de composição, conformação e sinterização, com base nas características microestruturais dos suportes, nomeadamente a fracção volúmica e a distribuição de tamanhos dos poros abertos, assim como a sua área superficial específica.

Os espécimes porosos desenvolvidos com as variáveis de processamento seleccionadas apresentam uma percentagem de porosidade elevada, boa interconectividade, tamanho de poro e resistência mecânica compatíveis com a possibilidade de serem utilizados na reparação de tecido ósseo. Adicionalmente, o comportamento destas estruturas em meio fisiológico acelular e a sua capacidade de induzir a precipitação de fosfatos de cálcio à sua superfície sugeriu o elevado potencial destes materiais no campo da regeneração óssea.



**keywords**

scaffolds, glass, sintering, salt leaching.

**Abstract**

In the bone repair and regeneration it becomes more and more attractive to use temporary porous supports, or scaffolds, capable of interacting with the living tissues, through adequate responses that lead to the formation of new bone.

The main goal of this work was to produce porous glass scaffolds with a composition that, in previous work, exhibited a bioactive behaviour with specific surface reactivity in synthetic physiological fluids.

The porous specimens were prepared by sintering a 54.89% $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5$  - 24.81% $\text{SiO}_2$  - 20.30%MgO glass (wt %) with a salt, NaCl, whose particle size and amount determine the characteristics of the scaffolds open porosity, after leaching.

In this work some of the process parameters were investigated, namely the amount of salt, for a constant particle size, pressing pressure and sintering rate, maximum temperature and holding time of the thermal cycle. The possibility of reaction between the salt and the glass surface during sintering was evaluated and the effect of salt inclusions on the kinetics of glass sintering was also investigated.

The “working window” for the sintering of the glass/salt mixture was seen to be very narrow with respect to the range of temperature and the total shrinkage severely restrained. For these effects several contributions should be taken into account, namely the reaction between the salt and the glass during sintering, with probable gas production and disruption of glass structure on the particles surface, the presence of salt particles that act as rigid inclusions within the glass matrix and the premature crystallization of glass.

The study of the porous scaffold processing allowed the selection of the most suitable composition, shaping and sintering conditions based on the microstructural characteristics of the scaffolds, namely the volume fraction and the distribution of open porosity as well as their specific surface area.

The developed scaffolds exhibit high porosity, interconnectivity, pore size distribution and mechanical strength suitable for bone repair applications. Additionally, the behaviour of these structures in physiological acellular medium and their capability to induce the precipitation of calcium phosphates on their surface, suggests the high potential of these materials to be used in the field of tissue regeneration.



## ***ÍNDICE***

ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS .....	VII
ÍNDICE DE TABELAS .....	VII
INTRODUÇÃO .....	12
Introdução .....	3
I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	5
1. Tecido ósseo .....	7
2. Scaffolds - Requisitos .....	8
2.1. Porosidade .....	8
2.2. Características da superfície .....	9
2.3. Propriedades Mecânicas e Biodegradabilidade .....	9
3. Materiais constituintes dos scaffolds – Vidros bioativos .....	10
4. Técnicas de fabrico de scaffolds .....	13
4.1. “Foam glass” – Agente surfatante .....	14
4.2. Porogéneo solúvel .....	15
4.3. Porogéneos calcináveis.....	16
4.4. Fibras de vidro .....	16
5. Sinterização.....	17
II – PROCEDIMENTO E TÉCNICAS EXPERIMENTAIS .....	21
1. Preparação e caracterização das matérias-primas .....	23
1.1. Matérias-primas.....	23
1.2. Preparação da frita.....	23
1.3. Caracterização da frita e do porogénio.....	24
1.3.1. Análise granulométrica .....	24
1.3.2. Análise Superficial Específica .....	24

1.3.3. Análise microestrutural .....	24
1.3.4. Análise Térmica Diferencial e Termogravimétrica .....	24
1.3.5. Análise Dilatométrica .....	25
1.3.6. Densidade .....	25
2. Preparação dos suportes porosos (“scaffolds”).....	26
2.1. Misturas de vidro/sal .....	26
2.2. Prensagem .....	26
2.3. Sinterização .....	26
2.4. Lixiviação .....	27
3. Caracterização dos Compactos .....	27
3.1. Densidade .....	27
3.2. Difracção de raios X.....	28
3.3. Área superficial específica (BET) .....	28
3.4. Absorção de água .....	28
3.5. Microscopia Electrónica de Varrimento/ EDS .....	29
3.6. Porosimetria de mercúrio .....	29
3.7. Resistência mecânica à compressão .....	29
3.8. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	30
4. Ensaio de mineralização in vitro .....	30
4.1. Testes de degradação em SBF .....	32
4.2. Espectroscopia de Emissão por Plasma Induzido acoplado (ICP) .....	32
III – APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS.....	33
1.1. Morfologia e distribuição granulométrica do sal.....	35
1.2. Comportamento térmico do sal .....	36
1.3. Distribuição granulométrica, área de superfície específica e morfologia da frita .....	38
1.4. Comportamento térmico do vidro.....	39
2. Estudo das condições de preparação dos suportes porosos.....	41



2.1. Variação da percentagem do sal .....	41
2.2. Misturas com 50 % de sal: Estudo das reacções e da cinética de sinterização.....	46
2.2.1. Reacção entre o sal e o vidro .....	46
2.2.2. Cinética de sinterização do vidro e da mistura .....	50
2.2.2.1.Sinterização do vidro .....	51
2.2.2.2.Sinterização do vidro/sal.....	55
2.3.Selecção de variáveis de processamento .....	60
2.3.1.Pressão de compactação.....	60
2.3.2.Temperatura e tempo de sinterização.....	61
3. Caracterização microestrutural, mecânica e de reactividade superficial de suportes .....	67
3.1.Microestrutura e porosidade.....	67
3.2.Resistência mecânica à compressão .....	68
3.3.Ensaio de mineralização in vitro .....	70
3.3.1.Análise das modificações superficiais .....	70
3.3.2.Análise de trocas iónicas entre o material e a solução .....	74
IV – CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS .....	79
V – BIBLIOGRAFIA.....	85



## ***ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS***

A.A	Absorção de água
ATD	Análise Térmica Diferencial
ATG	Análise Térmica Gravimétrica
ASE	Área superficial específica
Ca/P	Razão cálcio-fósforo
DRX	Difracção de raios X
Endo	Endotérmica
Exo	Exotérmica
EDS	Espectroscopia de dispersão de energia de raios X
FWHM	Full width at half-maximum
HA	Hidroxiapatite
IV	Espectroscopia vibracional de infra vermelho
ICP	Espectroscopia de Emissão por Plasma Induzido acoplado
TRIS	(Tri-hidroximetil)aminometano
SEM	Microscopia electrónica de varrimento (scanning electronic spectroscopy)
SBF	Fluido corporal simulado (simulated body fluid)

### ***-Símbolos Romanos***

$c$	Taxa de aquecimento
$D_0$	Tamanho médio de partícula
$d_v$	Densidade relativa do compacto em verde
$d_s$	Densidade relativa do compacto sinterizado
$d_L$	Densidade relativa após lixiviação
$E$	Módulo de elasticidade
$f_{fr}$	Fracção volúmica da frita
$f_{sal}$	Fracção volúmica do sal
$\overline{G}_0$	Tamanho médio inicial de partícula
$L_0$	Comprimento inicial do compacto
$L$	Comprimento final do compacto
OCP	Fosfato Octacálcico
$P$	Porosidade
$P$	Expoente de sinterização
$P_h$	Peso da amostra húmida

$P_s$	Peso da amostra seca
$Q$	Energia de activação da sinterização
$Q'$	Constante do fluxo viscoso
$R$	Constante dos gases perfeitos
$T$	Temperatura absoluta
$T_c$	Temperatura de cristalização
$T_f$	Temperatura de fusão
$T_g$	Temperatura de transição vítrea
VAC	Velocidade de aquecimento constante
$W_s$	Peso do compacto sinterizado
$W_l$	Peso após lixiviação
$Y$	Retracção linear
% pond.	Percentagem ponderal
% vol.	Percentagem volúmica

### **- *Símbolos gregos***

$\alpha$	Coeficiente de expansão térmica
$\rho_a$	Densidade aparente
$\rho_{sal}$	Densidade do sal
$\rho_{fr}$	Densidade da frita
$\rho_{t,m}$	Densidade teórica da mistura
$\rho_r$	Densidade relativa
$\rho_v$	Densidade em verde
$\rho_s$	Densidade em sinterizado
$\rho_L$	Densidade após lixiviação
$\Phi$	Fracção de sal
$\Sigma$	Tensão nominal
$E$	Extensão nominal

## ***ÍNDICE DE FIGURAS***

Figura 1-1: Representação esquemática da formação do “colo”, sendo $x$ , o raio do “colo” e $p$ , o raio de curvatura da superfície na região do “colo”.	17
Figura 3-1: Distribuição granulométrica cumulativa do tamanho de partícula do cloreto de sódio.	35
Figura 3-2: Micrografia obtida por SEM das partículas de sal.	36
Figura 3-3: Curva de análise termogravimétrica e térmica diferencial de um compacto de sal.	37
Figura 3-4: Análise dilatométrica de um compacto de sal para a taxa de aquecimento de $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .	37
Figura 3-5: Distribuição granulométrica das partículas de vidro, após moagem.	38
Figura 3-6: Micrografia obtida por SEM das partículas de vidro.	39
Figura 3-7: Curva de análise termogravimétrica e térmica diferencial do vidro.	40
Figura 3-8: Análise dilatométrica do vidro para a taxa de aquecimento de $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .	40
Figura 3-9: Difractograma dos compactos de vidro sinterizados às temperaturas indicadas.	41
Figura 3-10: Análise dilatométrica dos compactos com diferentes percentagens de sal em função da temperatura, com taxa de aquecimento de $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .	42
Figura 3-11: Variação da porosidade total e da percentagem de absorção de água em função da percentagem de sal adicionada.	44
Figura 3-12: Micrografias obtidas por SEM dos suportes com diferentes percentagens de sal. A) 10 % sal, B) 30 % sal, C) 40 % sal, D) 50 % sal, E) 60 % sal e F) 70 % sal.	45
Figura 3-13: Curvas de análise termogravimétrica e térmica diferencial do compacto vidro/sal.	47
Figura 3-14: Difractograma do compacto sinterizado à temperatura de $800\text{ }^{\circ}\text{C}$ .	47
Figura 3-15: Espectro de FTIR do vidro sem tratamento térmico e das estruturas porosas sinterizados a $450\text{ }^{\circ}\text{C}$ e a $750\text{ }^{\circ}\text{C}$ .	49
Figura 3-16: Ampliação do espectro de FTIR na gama dos $500\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$ do vidro e das estruturas porosas sinterizados a $450$ e a $750\text{ }^{\circ}\text{C}$ , (a) espectro de FTIR, (obtido noutra equipamento) na gama dos $500\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ do vidro sinterizado a $750\text{ }^{\circ}\text{C}$ .	49
Figura 3-17: Curva de expansão linear para compactos de pós de vidro aquecidos às taxas de aquecimento de 2, 5, 10 e $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .	52
Figura 3-18: Taxa de retracção em função da temperatura, para as taxas de aquecimento de 2, 5, 10 e $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .	52
Figura 3-19: Gráfico de $\ln y$ versus $\ln c$ a temperatura constante.	53

Figura 3-20: Representação de Arrhenius da velocidade de aquecimento para valores de retracção constantes.....	54
Figura 3-21: Análise dilatométrica dos compactos de vidro com sal na proporção de 1:1 para as taxas de aquecimento de 2, 5, 10 e 20 °C min <sup>-1</sup> .....	55
Figura 3-22: Efeito da velocidade de aquecimento na retracção linear dos compactos. ....	57
Figura 3-23: Taxa de retracção em função da temperatura, para as taxas de aquecimento de 2, 5, 10 e 20 °C min <sup>-1</sup> .....	57
Figura 3-24: Taxa de retracção do compacto de vidro e do compacto de vidro/sal em função da temperatura, para as taxas de aquecimento de 5 e 10 °C min <sup>-1</sup> .....	58
Figura 3-25: Gráfico de ln $y$ versus ln $c$ , para as temperaturas de 725, 730, 735 e 740 °C. [ $c$ em °C].....	59
Figura 3-26: Representação de Arrhenius da velocidade de aquecimento a valores de retracção constantes. ....	60
Figura 3-27: Variação da densidade relativa ( $d_l$ ), absorção de água (A.A.) e porosidade (P) com o tempo para compactos sinterizados a 750 °C, após lixiviação. ....	64
Figura 3-28: Variação da densidade relativa ( $d_l$ ), absorção de água (A.A.) e porosidade (P) com o tempo para compactos sinterizados a 760 °C, após lixiviação. ....	64
Figura 3-29: Variação da área superficial específica com o tempo de patamar para compactos sinterizados a diferentes temperaturas, após lixiviação.....	65
Figura 3-30: Imagem de SEM da estrutura porosa sinterizada a 750 °C com patamar de a) 0 min e b) 10 min.....	66
Figura 3-31: Imagem de SEM da estrutura porosa tratada a 760 °C com patamar de 0 min.....	66
Figura 3-32 a, b, c, d: Micrografia das estruturas porosa sinterizadas a 750 °C, durante 10 min com diferentes ampliações. ....	67
Figura 3-33: Distribuição do tamanho de poro da estrutura sinterizada a 750 °C durante 10 min...	68
Figura 3-34: Curva nominal de tensão extensão em ensaios de compressão de estruturas porosas com 50% sal. ....	69
Figura 3-35: Imagem de SEM da estrutura porosa, com vários tempos de imersão em SBF: a) sem imersão, b) 1 hora. ....	71
Figura 3-36: Imagem de SEM da estrutura porosa, com 3 dias de imersão em SBF, a) ampliação 1000 vezes, b) 10000 vezes.....	71
Figura 3-37: Imagem de SEM da estrutura porosa, com 14 dias de imersão em SBF, a) ampliação 1000 vezes, b) 10000 vezes.....	72
Figura 3-38: Evolução da razão Ca/P determinada por EDS, nas amostras após imersão em SBF.	73
Figura 3-39: Difractograma de raios-X da amostra com diferentes tempos de imersão. ....	74

Figura 3-40: Variação da concentração elementar da solução de SBF em Si e Mg.....	75
Figura 3-41: Variação da concentração elementar da solução de SBF, em Ca e P.....	75
Figura 3-42: Variação dos valores de pH da solução de SBF, após vários tempos de imersão. ....	76
Figura 3-43: Variação da percentagem de perda de peso em função do tempo de imersão em SBF.....	77

## *ÍNDICE DE TABELAS*

Tabela 1-1: Propriedades mecânicas, em compressão do osso. ....	10
Tabela 1-2: Propriedades mecânicas, em compressão do vidro e da hidroxiapatite densos e porosos. ....	13
Tabela 1-3: Energia de activação aparente, $Q$ , para a retracção linear na sinterização em condições não isotérmicas de alguns vidros. ....	20
Tabela 2-1: Caracterização das matérias-primas utilizadas no fabrico de vidro. ....	23
Tabela 2-2: Ordem da adição e quantidade de reagentes usados na preparação de SBF. ....	31
Tabela 2-3: Concentrações iónicas, $\text{mol l}^{-1}$ , presentes no plasma sanguíneo humano e na solução sintética de SBF. ....	31
Tabela 3-1: Quadro resumo da caracterização física do vidro e do sal. ....	35
Tabela 3-2: Caracterização dos compactos em estudo, sinterizados até 800 °C, com uma taxa de aquecimento de 5 °C $\text{min}^{-1}$ . ....	43
Tabela 3-3: Frequências de vibração activa em infravermelho. ....	50
Tabela 3-4: Expoente cinético de sinterização do vidro. ....	54
Tabela 3-5: Energia de activação da sinterização do vidro. ....	55
Tabela 3-6: Expoente cinético da sinterização da mistura vidro e sal (1:1). ....	59
Tabela 3-7: Energia de activação da sinterização dos compactos. ....	60
Tabela 3-8: Efeito da pressão de compactação nas características dos compactos. ....	61
Tabela 3-9: Caracterização das amostras sinterizadas. ....	62
Tabela 3-10: Caracterização das amostras lixiviadas. ....	63
Tabela 3-11: Propriedades mecânicas, em compressão, das estruturas porosas e do osso. ....	70





## INTRODUÇÃO

---





## Introdução

Os avanços da medicina proporcionaram ao homem não só um aumento da esperança de vida, como também o desejo de uma melhor qualidade de vida. Este aspecto tem gerado um aumento da procura e consequentemente o desenvolvimento de novos materiais para utilização em enxertos com a função de restaurar, remodelar ou mesmo reforçar estruturas ósseas. O emprego de enxerto de osso autólogo fresco, considerado por muitos como a solução de eleição, traz alguns problemas, relacionados com a disponibilidade limitada do material, lesão ou enfraquecimento das estruturas ósseas dadoras e riscos inerentes a esse tipo de intervenção <sup>[1-4]</sup>. Os bancos de ossos (aloenxertos) também apresentam problemas, como a alteração das propriedades mecânicas, a necessidade de imunossuppressores, dificuldades técnicas de esterilização e armazenamento, além dos custos elevados que essas técnicas acarretam <sup>[3, 5-8]</sup>. As numerosas restrições que este tipo de enxertos biológicos apresenta levaram ao desenvolvimento de biomateriais sintéticos e à sua utilização em engenharia de tecidos. Este tipo de substitutos sintéticos deve ser desenvolvido especialmente para estimular a regeneração óssea e servir de suporte ao tecido neoformado. <sup>[9]</sup>

Os biomateriais desenvolvidos para regeneração óssea têm por objectivo interagir com o tecido de forma específica, mediante estímulos a nível celular e molecular, combinando propriedades de bioabsorção e bioactividade no mesmo material. A utilização de biovidros <sup>[10]</sup> para aplicação na regeneração óssea tem revelado características vantajosas. O produto de dissolução destes vidros bioactivos, cujos constituintes estão presentes na fase mineral dos ossos, provoca uma rápida expressão dos genes que regulam a osteogénese e a produção de factores de crescimento. <sup>[11]</sup>

Este trabalho tem como objectivo geral a obtenção e a caracterização de suportes porosos a partir de composições vítreas do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5\text{-MgO}$  utilizando o método de sinterização com sal. Dentro dos objectivos específicos deste trabalho estão: (i) o estudo do efeito da percentagem de porogéneo adicionado, e do efeito do ciclo de sinterização na microestrutura do suporte e (ii) avaliação das características de reactividade superficial e de resistência mecânica dos suportes seleccionados.

Este trabalho está dividido da seguinte forma: na primeira parte é feita uma revisão bibliográfica para fundamentar as discussões; na segunda parte são explicitadas, com algum detalhe, algumas das técnicas e protocolos experimentais utilizados na realização do trabalho; na terceira parte são apresentados os resultados obtidos e a discussão dos mesmos e, por fim, são listadas as conclusões obtidas a partir dos resultados deste trabalho.



## **I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

---





## 1. Tecido ósseo

O osso é um tecido conjuntivo especializado, cuja composição, organização e dinâmica lhe permitem participar na função mecânica de sustentação e na homeostasia mineral do corpo. Segundo a estrutura macroscópica, o osso pode ser dividido em duas categorias, o osso esponjoso ou trabecular e o osso compacto ou cortical. A grande diferença entre estes dois tipos de osso é a sua porosidade. O osso esponjoso, como o seu nome indica, assemelha-se a uma esponja, com uma porosidade interconectada entre 50 a 90%, o que faz com que a tensão máxima de compressão e o módulo de elasticidade sejam 10 vezes menores do que as do osso compacto.<sup>[12]</sup> O osso compacto é um tecido mais denso com apenas 10% de porosidade, bem vascularizado e mineralizado. Os componentes minerais do osso são fosfatos de cálcio, sendo o mais importante a hidroxiapatite,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . A estrutura apatítica do osso também contém pequenas quantidades de flúor, cloro, sódio e magnésio.<sup>[13]</sup>

O osso tem a capacidade de promover a sua regeneração espontânea e remodelar a sua micro e macroestrutura, através de processos de osteogénese (formação do osso) e reabsorção óssea. Em caso de fractura ou doença este processo pode ser agilizado com o recurso a implantes.

Embora as reparações ósseas ainda sejam na sua maioria realizadas por enxertos biológicos autólogos (massa óssea retirada do próprio paciente) ou aloenxertos (massa óssea doada por cadáveres), devido às numerosas restrições que estes enxertos apresentam, foram desenvolvidos substitutos sintéticos para estimular a regeneração óssea e servir de suporte ao tecido neoformado. Um dos grandes desafios com que a ciência de biomateriais se depara actualmente resulta da necessidade, cada vez maior, da utilização de implantes, aliada ao significativo aumento da esperança de vida das pessoas. De facto, uma fracção crescente de pacientes vive para além do tempo de vida expectável dos seus implantes, pelo que os novos materiais deverão apresentar uma durabilidade da ordem dos 20 a 30 anos, o dobro do que se verifica nos materiais utilizados até à actualidade. A tendência será o desenvolvimento de materiais direccionados para a regeneração do tecido ósseo através da engenharia de tecidos e, não apenas, para a substituição destes. Existem duas estratégias gerais na área de engenharia de tecidos: a primeira consiste na produção de suportes tridimensionais onde as células são colocadas *in vitro* para assim promover a secreção de matriz extra celular e a formação de tecido *in vitro*, antes de ser implantado. A segunda estratégia consiste no desenvolvimento de suportes com uma porosidade interconectada capaz de alojar no seu interior células ósseas e guiar a regeneração do osso *in vivo*.

## **2. Scaffolds - Requisitos**

O termo *scaffold* ou suporte poroso é utilizado ao longo deste trabalho com o objectivo de designar matrizes temporárias ou definitivas para o crescimento de tecido ósseo. Estas matrizes proporcionam um ambiente e arquitectura específicos para o desenvolvimento do tecido. A composição do material e as características estruturais, tais como os desenhos interno e externo são de crucial importância para o sucesso das estratégias de engenharia de tecidos. <sup>[14,15]</sup>

Idealmente os *scaffolds* deveriam favorecer a ligação, o crescimento e a diferenciação celular. Os *scaffolds* devem ser construídos de modo a permitir mimetizar os processos de regeneração. Devem possuir um formato externo adaptável ao tamanho e geometria do defeito <sup>[16]</sup>.

Após implante, os scaffolds devem permitir a neovascularização, estimular a formação do tecido ósseo e devem ser biodegradáveis ou reabsorvíveis de modo a permitir a substituição deste por tecido recém-formado. <sup>[17]</sup>

É desejável que, para além das características anteriormente citadas, a matriz possua comportamento mecânico compatível com o osso. Essas propriedades devem ser mantidas à medida que ocorre a degradação da matriz e o crescimento do novo tecido.

A estrutura obtida deveria ser formada por uma rede de poros interconectados, com elevada porosidade e uma ampla variedade de tamanho de poros, idêntica à estrutura do osso. Esses requisitos serão em seguida desenvolvidos.

### **2.1. Porosidade**

Dentro das características microestruturais mais importantes para a função *in vivo* de um suporte poroso destacam-se as da fracção volúmica dos espaços abertos da estrutura, denominada de porosidade. O suporte deve possuir uma porosidade elevada e com características tais tal que o tamanho e interconectividade dos poros favoreçam a integração, crescimento e ancoragem das células e, também, a vascularização do tecido, importante na difusão de nutrientes e gases e na remoção de metabólicos resultantes da actividade das células que entretanto irão crescer no suporte poroso. <sup>[15, 18-20]</sup>

Na engenharia de tecidos, a vascularização é de importância vital devido, não só às características metabólicas do osso mas também às elevadas taxas de transferência de massa que se espera que ocorram mesmo em condições de cultura *in vitro*. <sup>[19]</sup>

Os poros devem apresentar um aspecto tridimensional interligado em toda a espessura do *scaffold*, de modo a permitir o crescimento do tecido ósseo para o interior dos mesmos <sup>[20]</sup>.

No entanto, o grau de porosidade influencia também outras propriedades do suporte tais como a estabilidade mecânica, devendo portanto este valor ser balanceado com as necessidades mecânicas do local de implantação, para utilização *in vivo*.

O tamanho de poro é também de grande importância. Se os poros tiverem um tamanho reduzido, ocorrerá oclusão dos poros aquando da ancoragem das células, o que por sua vez irá impedir a penetração celular, a produção de matriz extracelular e a neovascularização da área interna do *scaffold*.

Em relação ao tamanho ideal de poros, grande parte dos autores considera aconselhável poros com um diâmetro na gama dos 100-900  $\mu\text{m}$  para que ocorra o suprimento de sangue para fornecimento de alimentos e excreção de modo a permitir o crescimento do tecido ósseo <sup>[21-23]</sup> e poros na gama dos microporos (diâmetros inferiores a 10  $\mu\text{m}$ ) para promover a adesão e proliferação celulares. <sup>[24]</sup> No entanto, alguns autores <sup>[25]</sup> acreditam que a reconstrução óssea será apenas obtida através de uma matriz 3D temporária com macroporos interconectados na gama dos 1.2-2.0 mm. Esta última abordagem reduz de tal forma a resistência que a utilização destes suportes fica limitada a aplicações *in vivo* com exigências mecânicas muito reduzidas. <sup>[26]</sup>

## **2.2. Características da superfície**

As propriedades superficiais dos materiais designadamente as químicas e as topográficas podem controlar e afectar a adesão e proliferação celulares. <sup>[27-29]</sup>

Um material bioactivo induz a formação de uma camada de apatite carbonatada biologicamente activa sobre a sua superfície, criando um ambiente compatível com a osteogénese. Esta interface mineralizada assegura a ligação entre o material e o tecido vivo, resultando na reparação ou regeneração tecidual. <sup>[30]</sup> Uma superfície rugosa terá maior capacidade de aprisionar a nova matriz que uma superfície lisa, o que facilita a migração de células osteogénicas para a superfície do material. <sup>[31, 32]</sup>

## **2.3. Propriedades Mecânicas e Biodegradabilidade**

Os suportes porosos bioabsorvíveis são projectados para degradar gradualmente num certo período de tempo, sendo progressivamente substituídos pelo tecido hospedeiro. As suas

propriedades mecânicas deveriam ser idealmente equivalentes à do osso, conforme as características apresentadas na tabela 1-1.

**Tabela 1-1:** Propriedades mecânicas, em compressão do osso. <sup>[33]</sup>

	$\sigma$ (MPa)	E (GPa)
Osso trabecular	2-12	0.05-0.5
Osso cortical	80-120	3-30

Os produtos de degradação devem ser metabolicamente aceitáveis e a velocidade de degradação *in vivo* deve ser semelhante à velocidade de reparação do tecido vivo. <sup>[34]</sup> A manutenção da resistência e da estabilidade da interface durante o período da degradação e reconstrução do tecido natural hospedeiro e a harmonização da taxa de degradação do suporte com a taxa de crescimento do novo tecido ósseo, são algumas das dificuldades no desenvolvimento de materiais reabsorvíveis. <sup>[35, 36]</sup>

### **3. Materiais constituintes dos scaffolds – Vidros bioactivos**

Vários materiais têm sido utilizados com o objectivo de produzir *scaffolds*. Neste contexto, vários materiais, na sua maioria polímeros de origem natural ou sintética e alguns cerâmicos/vidros têm sido propostos para o desenvolvimento de *scaffolds* que possuam os requisitos referidos anteriormente. <sup>[37-42]</sup> A resposta dos tecidos pode favorecer a incorporação do material ou acelerar a regeneração da lesão. É o caso dos implantes de vidros bioactivos, que interactivam directamente com os componentes do tecido ósseo permitindo reparar o defeito ósseo. <sup>[43]</sup>

De todos os materiais utilizáveis no fabrico de *scaffolds*, centramo-nos-emos nos vidros, objecto de estudo desta tese. Os biovidros ocuparam um lugar de destaque na área de medicina regenerativa óssea, principalmente a partir da década de 80. Desde a sua descoberta, o interesse nos vidros bioactivos tem expandido, estando actualmente focado não só na sua capacidade de rápida ligação química, através de uma interface apatítica com o tecido ósseo, mas também no seu potencial osteogénico e consequente utilização na engenharia de tecidos.

Os vidros ditos bioactivos desenvolvem na sua superfície uma capa biologicamente activa de hidroxiapatita carbonatada (HCA) a qual promove a interface de união com o tecido. Estes materiais reagem em contacto com o fluido envolvente, formando um gel hidratado na superfície,

rico em iões Ca e P. A cristalização desta capa conduz à formação de apatite, similar tanto química como estruturalmente à fase mineral do osso <sup>[44-47]</sup>. Quanto mais rápida a formação da camada de HCA mais rápida será a ligação ao tecido ósseo.

Segundo Hench <sup>[48,49]</sup>, as reacções que ocorrem na superfície do vidro podem ser resumidas em cinco estágios:

1 - Troca iónica entre a solução e a superfície do vidro, com libertação de iões como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  e consequente formação de grupos silanol ( $\text{Si-OH}$ ):



2 - Dissolução de sílica solúvel do vidro, devido à quebra das ligações  $\text{Si-O-Si}$ :



3 - Policondensação de grupos silanol e formação de uma camada porosa rica em sílica;

4 - Aumento da concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  na solução com o tempo, devido à libertação de iões do vidro e posterior formação de um filme rico em  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$  na superfície do vidro quando o ponto de saturação é alcançado. A elevada área superficial da camada rica em sílica favorece a nucleação heterogénea do filme de  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$  amorfo.

5 - Cristalização de uma camada de HA pela incorporação de aniões  $\text{OH}^-$  e  $\text{CO}_3^{2-}$  da solução.

A dissolução do fósforo poderá ser necessária na mineralização da matriz e formação da camada de HCA. Em relação ao papel desempenhado pela sílica, acredita-se que a presença de grupos silanol ( $\text{Si-OH}$ ) na superfície da sílica amorfa, é responsável pelo crescimento da HA e pela formação de osso. Os grupos silanol presentes nos vidros (superfícies amorfas) induzem a formação da hidroxiapatite em maior extensão do que as superfícies de sílica cristalinas ou vidro ceramizado. <sup>[54]</sup>

Em relação à bioactividade de vidros contendo  $\text{MgO}$ , o tema é controverso. <sup>[50]</sup> Ebisawa *et al* <sup>[51]</sup> mostraram que a adição de  $\text{MgO}$  diminuía a bioactividade de vidros contendo  $\text{CaO-SiO}_2$ . Este facto foi interpretado em termos do efeito do  $\text{MgO}$  na supressão da dissolução do cálcio, o que inibia a formação da camada de sílica gel. <sup>[51]</sup> Posteriormente, outros trabalhos discordaram deste

estudo inicial, mostrando que é possível desenvolver vidros com elevado teor em MgO (~ 18%) sem perda da bioactividade.<sup>[52]</sup>

De um modo geral os biovidros são à base de SiO<sub>2</sub> e ou à base de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Os biovidros de óxido de silício foram desenvolvidos, principalmente por Hench, nos anos 70.<sup>[53,54]</sup> Estes vidros demonstraram ser altamente bioactivos mas, a sua taxa de reabsorção era muito baixa para algumas aplicações. Quando se pretende alargar a gama de composições químicas destes vidros, o processo de produção tradicional do vidro por fusão, tem-se revelado limitativo, pelo que a sua preparação via sol-gel pode ser útil no estudo de novas composições,<sup>[55]</sup> tais como o vidro 70S30C, cuja composição está representada na tabela 1-1.

O desenvolvimento de vidros de fosfato para aplicação biomédica remonta ao princípio dos anos 80, introduzidos por Burnie e Gilchrist.<sup>[56,57]</sup> Estes vidros permitem um ajuste da composição química à fase mineral do osso, e apresentam uma gama variada de taxas de degradação em função desta composição, o que permite obter vidros com cinética de dissolução a curto e a longo prazo consoante a aplicação requerida.<sup>[58,59]</sup>

Alguns dos vidros desenvolvidos para aplicações biomédicas estão actualmente disponíveis no mercado, na forma de monolíticos<sup>[26]</sup> ou em pó<sup>[44]</sup>. O primeiro vidro a ser aprovado para utilização biomédica, em 1985, foi desenvolvido por Hench e designado por Bioglass 45S5, para aplicação em cirurgias do ouvido médio. Este biovidro pertence ao sistema SiO<sub>2</sub>-CaO-Na<sub>2</sub>O-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, e tem a composição representada na tabela 1-2. Desde 1993, o Bioglass® tem sido utilizado, na forma de pó, no preenchimento de defeitos periodontais, conhecido no mercado como PerioGlass®.<sup>[44]</sup>

Até à década de 80, os vidros bioactivos eram obtidos exclusivamente pelo método tradicional de fusão e arrefecimento rápido. O desenvolvimento e melhoria destes vidros eram dirigidos principalmente para o reforço das propriedades mecânicas, através da preparação de vitrocerâmicos. A vitrocerâmização, obtida pela cristalização controlada do vidro através de tratamentos térmicos, proporciona propriedades térmicas e mecânicas melhoradas em comparação com os vidros base e a sua bioactividade em SBF pode ser controlada pelas fases cristalinas presentes no vitrocerâmico.<sup>[60]</sup> As propriedades dos vidros sempre foram uma limitação e por esse motivo as aplicações dos vidros limitam-se a zonas com reduzidas solicitações mecânicas. Mesmo após ceramização, os valores obtidos de resistência à compressão são inferiores às do osso, com excepção do vitrocerâmico 70S30C, que apresenta um valor dentro da gama obtida para o osso trabecular, como se pode verificar na tabela 1-2.

**Tabela 1-2:** Propriedades mecânicas, em compressão do vidro e da hidroxiapatite densos e porosos.

	Composição	$\sigma$ (MPa)	Referências
45S5 Bioglass® (denso)	45%SiO <sub>2</sub> -24.4%CaO- 24.5%Na <sub>2</sub> O -6% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	~ 500	[26]
Bioglass® Vitrocerâmico poroso (> 90%)	//	0.2-0.4	[60]
Vitrocerâmico poroso 70S30C (82 %)	70%SiO <sub>2</sub> -30%CaO (mol. %)	2.25	[34]
Hidroxiapatite (HA) (denso)	Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	> 400	[61]
HA porosa (82-86%)	//	0.21-0.41	[62]

A resistência mecânica dos vidros e vitrocerâmicos porosos bioativos é inferior à do osso trabecular que possui uma resistência mecânica à compressão de 2-12MPa. Por esse motivo, esta propriedade dos vidros deve ser melhorada para aplicações sujeitas a solicitações mecânicas.<sup>[64]</sup> As propriedades mecânicas devem permitir que os *scaffolds* resistam à pressão e mantenham a porosidade necessária ao crescimento celular e à produção da matriz.<sup>[53,65,66]</sup>

Na forma de implantes porosos, os vidros bioativos proporcionam a osteointegração dada pela possibilidade do crescimento do tecido para o interior dos poros<sup>[67]</sup>, através de um tipo de fixação denominado "fixação biológica"<sup>[68-70]</sup> que permite suportar esforços mecânicos mais elevados.

#### 4. Técnicas de fabrico de scaffolds

Os métodos propostos para a preparação de scaffolds com uso de materiais poliméricos ou cerâmicos e porosidade adequada à sua aplicação, são variados. A sua aplicação em vidros é contudo mais recente. Em todos os métodos utilizados para a produção de estruturas 3-D porosas a partir de partículas de vidro é necessário recorrer à sinterização.

Apesar da descoberta do Bioglass em 1971, ainda nenhum scaffold de estrutura vítrea foi produzido com sucesso<sup>[71]</sup>, pois o Bioglass cristaliza imediatamente acima da temperatura de transição vítrea, obtendo-se na realidade um scaffold vitrocerâmico<sup>[60]</sup>.

Algumas das técnicas utilizadas na obtenção de scaffolds com base em vidros bioativos produzidos que através da fusão convencional ou por sol-gel, são a incorporação de diversos tipos

de agentes indutores de porosidade tais como agentes espumantes, porogéneos solúveis ou calcináveis e a utilização de fibras de vidro. <sup>[37,72-75]</sup> Estas técnicas são descritas seguidamente.

#### **4.1. “Foam glass” – Agente espumante**

O recurso à incorporação de um agente espumante tem sido estudado por vários autores. <sup>[63, 75,76]</sup> Um dos agentes espumantes utilizados para gerar porosidade é o peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ). O método consiste em misturar partículas de vidro com peróxido de hidrogénio, seguido de um processo de sinterização a uma temperatura inferior à temperatura de cristalização do vidro. A decomposição do peróxido de hidrogénio tem lugar a 60 °C com a libertação de  $O_2$ . O oxigénio libertado induz a formação de borbulhas no interior do material dando origem à estrutura porosa. Com a utilização desta técnica, em vidros, foram obtidas uma porosidade reduzida e poros com a forma de canais orientados, de diâmetro irregular, com uma interconectividade pobre. Esta técnica foi utilizada por Yuan *et al* <sup>[71]</sup> para o desenvolvimento de vidros porosos a partir do *Bioglass®* e, para o estudo sobre a biocompatibilidade *in vivo* de *scaffolds* elaborados a partir do mesmo. De acordo com os autores, o material obtido era substancialmente cristalino e a sua reabsorção/degradabilidade relativamente baixa. O vitrocerâmico obtido apresenta tamanho de poros na gama dos 100-600  $\mu m$ . Este método apresentou também a dificuldade em controlar o tamanho e o número de poros do vitrocerâmico.

Navarro *et al* <sup>[75]</sup> utilizaram o mesmo método para a obtenção de estruturas 3-D porosas de vidro e vitrocerâmicos no sistema  $P_2O_5$ -CaO- $Na_2O$ - $TiO_2$ . A aplicação deste método aos vidros de fosfato, tinha como objectivo a produção de estruturas macroporosas solúveis com uma degradação controlada. Neste trabalho, os autores analisaram vários parâmetros que afectaram tanto a arquitectura/microestrutura dos suportes porosos, como as quantidades relativas de fases amorfas/cristalinas presentes que, por sua vez, condicionaram notavelmente a taxa de degradação do suporte. Analisando os diversos trabalhos com este agente espumante poderá dizer-se que, em geral, o peróxido de hidrogénio leva à formação de poros com uma morfologia particular, alongados a baixas concentrações e mais arredondados a concentrações superiores. O factor que afecta predominantemente a macroporosidade é a percentagem de  $H_2O_2$  incluído na mistura inicial. Com o aumento da percentagem deste agente, aumenta a porosidade, o tamanho de poros e o grau de interconectividade do suporte. O suporte com maior porosidade (55%) obtido com a adição de 60 %  $H_2O_2$  apresentou poros com tamanho superior a 500  $\mu m$ .

A aplicação de agentes espumantes à técnica de sol-gel permitiu obter uma rede interconectada de poros similar ao osso trabecular, com nanoporosidade, poros com diâmetros na gama dos 2-50 nm, inerente ao processo sol-gel e macroporosidade superior a 100  $\mu m$ . Estes



biovidros porosos pertencentes aos sistemas  $\text{SiO}_2$  (100S),  $\text{SiO}_2\text{-CaO}$  (70S30C) e  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  (58S) possuem uma área superficial específica entre 106-283  $\text{m}^2/\text{g}$  e resistência mecânica à compressão de 2.2-2.4 MPa, similar à do osso esponjoso e à hidroxiapatite porosa usada clinicamente [76,77].

A técnica de “foam glass” apresenta como limitações o difícil controlo da distribuição da porosidade e interconectividade dos poros o que dificulta a obtenção de geometrias e porosidade adequadas aos locais de implantação. O efeito da temperatura influencia a quantidade de fase cristalina presente, o que por sua vez irá influenciar a reabsorção da estrutura.

#### ***4.2. Porogéneo solúvel***

Este método consiste na mistura de determinada proporção de partículas solúveis tais como NaCl,  $\text{K}_2\text{SO}_4$  e  $\text{MgSO}_4$  [78,79], com partículas de vidro. Esta mistura é de seguida prensada e sinterizada. Após sinterização, as partículas de sal são dissolvidas em água deixando poros no seu lugar. Esta técnica foi inicialmente utilizada na confecção de membranas de vidro, no emprego de microfiltração para remoção de contaminantes de origem agro-industrial com a possibilidade de ser aplicada em diversas áreas de biotecnologia e medicina. Dependendo da razão vidro/sal esta técnica permite obter valores de porosidade aberta até cerca de 75 %. [78,80]

O sal seleccionado terá de ter um tamanho de partícula adequado, uma temperatura de fusão superior à temperatura de densificação do vidro e possuir uma elevada solubilidade num solvente em que o vidro é insolúvel. O sal adicionado não deverá induzir a formação de novas fases na composição do vidro durante o processo de sinterização.

O tamanho dos poros será dependente da granulometria das partículas de sal utilizadas. Em relação a esta técnica pode ser estabelecido que a resistência do material sinterizado é tanto maior quanto menor o tamanho das partículas de vidro em relação às do sal. Contudo, o controlo das variáveis do processo de sinterização e o seu efeito nas características dos suportes não foi investigado. Os suportes assim obtidos têm uma resistência mecânica muito baixa de 0.29MPa. Esta técnica apresenta a vantagem de ser bastante simples mas, os resultados não são ainda satisfatórios devendo por isso, ser mais estudada.

### 4.3. Porogêneos calcináveis

Como agente promotor de porosidade também é possível utilizar partículas orgânicas tais como sacarose, gelatina, cânfora e polietileno <sup>[81-83]</sup>. O processo é idêntico ao anterior, apenas a sinterização ocorre a temperaturas superiores à temperatura de queima do porogênio, obtendo-se geralmente um vitrocerâmico poroso. A tendência do vidro cristalizar durante o tratamento térmico pode resultar em problemas de homogeneidade e reprodutibilidade.

Vitrocerâmicos macroporosos de composição molar 60%CaO.30%P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.3%TiO<sub>2</sub>.7%Na<sub>2</sub>O foram obtidos através de prensagem e sinterização da mistura das partículas de vidro com partículas de sacarose de diâmetro inferior a 500 µm. Baixas temperaturas de sinterização, elevada razão sacarose/vidro e pequeno tamanho de partículas de vidro propiciam elevada porosidade, cerca de 80 a 90 % de porosidade. Contudo, a utilização de baixas temperaturas de sinterização, prejudica a resistência mecânica da estrutura. <sup>[81]</sup>

Outro processo idêntico, consiste na mistura de partículas de cânfora (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O) como porogênio, com *Bioglass*® 45S5. <sup>[82]</sup> Foram obtidos macroporos com diâmetro entre 200-300 µm. Contudo, o uso desta técnica permitiu obter apenas 21% de porosidade total com poros isolados, não sendo portanto, possível simular a interconectividade do osso trabecular.

Da prensagem uniaxial de uma mistura de partículas de vidro de tamanho inferior a 160 µm com composição molar de 50% SiO<sub>2</sub>.44%CaO.6%K<sub>2</sub>O, com partículas de polietileno (PE) com proporções entre 40 e 70% volume obtém-se um vitrocerâmico poroso após sinterização da estrutura. Com 50% em volume de PE, foi obtido um scaffold com 50 a 70% de porosidade, interconectada. <sup>[83]</sup>

Li Nas *et al.* <sup>[84]</sup> produziram vidros bioativos macroporosos com 60-70% de porosidade, por sol-gel, com a adição de partículas de polietileno glicol (PEG) à solução, com a finalidade de agirem como agentes indutores de porosidade. As partículas de PEG apresentavam tamanhos na gama dos 150-200 µm e dos 200-300 µm. Foram obtidos nanoporos com diâmetro entre 4.2-4.8 nm e macroporos entre 100 e 300 µm. A necessidade de utilizar temperaturas elevadas produz materiais sinterizados com presença de fases cristalinas cuja natureza pode condicionar a taxa de degradação destes vidros.

### 4.4. Fibras de vidro

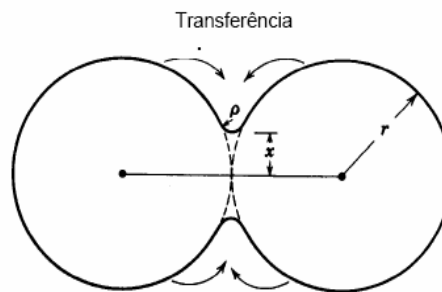
Fibras de vidro bioactivo podem também ser de interesse relevante para obter scaffolds, através da sinterização das fibras. As fibras são colocadas a granel em moldes cerâmicos. A porosidade relativa, o tamanho de poro e a resistência mecânica destes scaffolds podem ser

controladas modificando certos parâmetros, tais como, a dimensão das fibras, a temperatura e o tempo de sinterização.<sup>[85,86]</sup>

Pirhonen *et al.*<sup>[86]</sup> produziram vidro do sistema  $53\text{SiO}_2\text{-}6\text{Na}_2\text{O-}12\text{K}_2\text{O-}5\text{MgO-}20\text{CaO-}4\text{P}_2\text{O}_5$  (% pond.) com 80 % de porosidade e tamanho médio de poros de 420  $\mu\text{m}$ , utilizando para isso fibras com 100  $\mu\text{m}$  de diâmetro e 3 mm de comprimento sinterizadas a 690 °C. A porosidade e tamanho de poro na estrutura podem ser controlados pela temperatura de sinterização. Com o aumento da temperatura de sinterização, aumenta a densificação da estrutura, diminuindo a porosidade relativa e tamanho de poro com consequente perda de interconectividade entre poros.

## 5. Sinterização

Entre as várias definições de sinterização, pode ser citada como “o processo térmico que resulta na redução da área específica de superfície livre pela formação de fronteiras de grão, com crescimento de colos entre as partículas e, normalmente, densificação do compacto”<sup>[88]</sup>. A Figura 1-1 mostra o modelo da formação deste colo.



**Figura 1-1:** Representação esquemática da formação do “colo”, sendo  $x$ , o raio do “colo” e  $p$ , o raio de curvatura da superfície na região do “colo”.<sup>[89]</sup>

Durante a sinterização, a matéria pode ser transportada por diversos mecanismos, onde se incluem a evaporação/condensação, a difusão em volume, a difusão na fronteira de grão, a difusão à superfície e o fluxo viscoso. A sinterização do cloreto de sódio, por exemplo, ocorre para temperaturas de 730 a 795 °C, por mecanismos de evaporação/condensação.<sup>[90]</sup> O mecanismo de sinterização por fluxo viscoso, característico na densificação de pós de vidros, envolve o movimento das partículas e deformação viscosa. A força motriz para que ocorra sinterização é a redução da energia livre total do sistema alcançada pela redução da área de superfície a qual ocorre

através dos seguintes estágios: 1) crescimento de colos, 2) diminuição da porosidade do compacto e densificação. Genericamente, o processo de sinterização pode ser dividido em três estágios:

Estágio inicial – em que as partículas individualizadas do compacto em verde começam a ligar-se entre si com o desenvolvimento de colos. Normalmente este estágio termina quando é atingida uma retracção linear de cerca de 3-5 %.

Estágio intermédio – durante este estágio os poros formam uma rede de canais entre as partículas interligadas e ocorre diminuição da porosidade. Este estágio termina quando os poros abertos dão lugar aos poros fechados, entre os 90 e 95 % de densidade relativa.

Estágio final – durante este estágio toda a porosidade se torna isolada. O tamanho médio dos poros tende a diminuir, contudo se os poros contêm gases com baixa solubilidade na matriz, a densidade do compacto pode ser afectada pelo aumento do volume dos poros.

A sinterização de pós de vidro tem como vantagens a obtenção de formas complexas, variando o formato do molde de prensagem, que não podem ser adquiridas pelas técnicas usuais de conformação de vidro e a obtenção de gamas de porosidades controladas. Acrescente-se ainda os custos relativamente reduzidos, pois esta técnica permite a utilização de equipamentos destinados à indústria cerâmica.<sup>[91]</sup> Ao contrário dos cerâmicos, os vidros não são propensos a apresentar defeitos provocados pela compactação por prensagem. Bordia e Raj<sup>[92]</sup> mostraram que a capacidade dos vidros em relaxar tensões através do fluxo viscoso às temperaturas de sinterização, reduz os problemas causados por uma microestrutura em verde não-uniforme.

O tamanho de partícula é um factor importante na sinterização do vidro.<sup>[93]</sup> A densidade do compacto aumenta com o valor da razão entre os tamanhos das partículas maiores e menores. Culter e Henrichsen<sup>[94]</sup> verificaram que partículas de vidro com distribuição de tamanhos variada e área superficial elevada sinterizam cerca de cinco vezes mais rapidamente do que vidros com tamanho médio de partícula equivalente mas com uma distribuição de tamanho muito uniforme.<sup>[94]</sup> Um estudo efectuado para o sistema  $\text{SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3\text{-ZnO}$  demonstrou existir um valor limite de tamanho de partícula de 7  $\mu\text{m}$ , a partir do qual a sinterabilidade das partículas de vidro diminui rapidamente. No entanto, não é claro se este limite de tamanho superior é válido para outro tipo de sistemas.<sup>[95]</sup> Em relação à morfologia das partículas, quanto mais afastada do formato esférico, menor é a densidade de empacotamento de uma distribuição que as contenha. Isso ocorre devido à fricção entre partículas, que surge pelo contacto das superfícies irregulares das mesmas.

Outra fonte de inibição da densificação do compacto é a cristalização das partículas. Na otimização do processo de sinterização do vidro, a densificação deveria ocorrer antes do início da cristalização. A cristalização traz uma redução acentuada da densificação por fluxo viscoso: para cerca de 10% de cristais formados, a viscosidade aparente aumenta cerca de 100 vezes, implicando uma redução brusca do fluxo viscoso com paragem de retracção, que é observável nas curvas dilatométricas.<sup>[96]</sup> Se a etapa de cristalização tiver início antes ou durante o processo de sinterização, o compacto resultante terá bastante porosidade e heterogeneidades devido à existência de uma fase cristalina no seio da matriz vítrea<sup>[97]</sup>. Na sinterização de vidro, a densificação ocorre a partir da  $T_g$  e se o intervalo entre  $T_g$  e  $T_c$  (temperatura de cristalização) for demasiado pequeno, o vidro pode não ter tempo para densificar completamente antes de se iniciar a cristalização. Pelo contrário, se a etapa de sinterização terminar antes do início de cristalização será obtido um compacto mais denso com baixa porosidade.<sup>[98]</sup>

Foi demonstrado experimentalmente por Boccaccini et al.<sup>[99]</sup> que compactos cilíndricos ( $5 \times 5$  mm) de partículas de vidro do sistema Ba–Mg–Al–Si–O com tamanho de partícula de  $\sim 10 \mu\text{m}$  densificam completamente quando submetidos a uma taxa de aquecimento de  $15 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$  até à temperatura de  $1050 \text{ }^\circ\text{C}$ . Contudo, este mesmo material cristaliza e consequentemente apenas densifica 89 % se submetido a uma taxa de aquecimento de  $1 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ . Neste caso, a elevada taxa de aquecimento favorece a sinterização em detrimento da cristalização.

A cinética de sinterização dos vidros é um aspecto importante na sinterabilidade das partículas de vidro. Grande parte dos estudos de sinterização tem sido levada a cabo através de medidas dilatométricas.<sup>[100-102]</sup> Em conjunto com esta técnica e no intuito de descrever quantitativamente o processo de sinterização, foram propostos alguns modelos teóricos para determinar o mecanismo e a cinética de densificação de partículas de vidro, dos quais se destacam os modelos teóricos de Frenkel<sup>[103]</sup>, Mackenzie-Shuttelworth<sup>[104]</sup> e Scherer<sup>[105]</sup>. Estes modelos apresentam algumas restrições: o modelo de Frankel só pode ser aplicado no estágio inicial e considera as partículas esféricas; o modelo proposto por Mackenzie e Shuttelworth é aplicado apenas para o estágio final de sinterização de pós, na remoção de porosidade fechada. O modelo desenvolvido por Scherer substitui as partículas esféricas individuais, assumidas por Frenkel, por cadeias de partículas, aproximadas a cilindros interligados, que formam um arranjo de células cúbicas. Este modelo descreve o estágio intermédio de sinterização, no qual os poros estão interligados. Várias equações, baseadas no modelo de Frankel, foram propostas para descrever a retracção linear no estágio inicial e que têm sido usadas em vários sistemas cristalinos ou amorfos, nomeadamente em condições não isotérmicas, com velocidade de aquecimento constante<sup>[106-108]</sup>.

Na tabela 1-3, estão apresentados alguns valores característicos da energia de activação para o escoamento viscoso de alguns vidros, em estudos de sinterização.

A cinética de sinterização do vidro silicatado ( $\text{Na}_2\text{O}-\text{B}_2\text{O}_3-\text{SiO}_2$ ) e do vidro  $\text{ZnO}-\text{B}_2\text{O}_3-\text{SiO}_2$  foi estudada num compacto de partículas esféricas. A energia de activação aparente determinada na sinterização destes vidros é reduzida quando comparada com a de um vidro de sílica pura,  $Q = 712 \text{ KJ mol}^{-1}$ , tabela 1-3, por efeito da adição do boro ( $\text{B}_2\text{O}_3$ ) e outros componentes com um papel de modificadores na estrutura vítrea.

O vidro  $56\text{SiO}_2-7\text{Al}_2\text{O}_3-32\text{CaO}-5\text{Na}_2\text{O}$  (% pond.) foi sinterizado desde a temperatura de transição vítrea até à obtenção de poros esféricos antes de ser detectada cristalização significativa. A taxa de aquecimento utilizada teve como objectivo ser suficientemente rápida de modo a garantir que a cristalização se inicie a temperaturas superiores, possibilitando a maior densificação do vidro. As energias de activação deste e de outro vidro com composição próxima apresentam uma energia de activação relativamente elevada,  $621$  e  $875 \text{ KJ mol}^{-1}$ , tabela 1-3, enquanto que os vidros de sílica e fósforo, tabela 1-3, apresentam valores de energia de activação um pouco mais moderados,  $Q = 536$  e  $350 \text{ KJ mol}^{-1}$ .

**Tabela 1-3:** Energia de activação aparente,  $Q$ , para a retracção linear na sinterização em condições não isotérmicas de alguns vidros.

Vidro	Tamanho inicial de partícula	Intervalo de temperaturas ( $^{\circ}\text{C}$ )	$Q \text{ (KJ mol}^{-1}\text{)}$
$\text{Na}_2\text{O}-\text{B}_2\text{O}_3-\text{SiO}_2$ <sup>[109]</sup>	$\bar{G}_0 = 40 \mu\text{m}$	$<560$	120
$\text{PbO}-\text{ZnO}-\text{B}_2\text{O}_3-\text{SiO}_2$ <sup>[109]</sup>	$\bar{G}_0 = 40 \mu\text{m}$	$<400$	138
$\text{SiO}_2-\text{B}_2\text{O}_2-\text{Na}_2\text{O}$ <sup>[110]</sup>	$\Delta G_0$	800-900	290-310
Sílica pura <sup>[111]</sup>	-	1100-1400	712
$\text{SiO}_2-\text{CaO}-0,1\text{P}_2\text{O}_5$ <sup>[112]</sup>	-	-	536
$46.1\text{SiO}_2 - 26.9\text{CaO} - 2.6\text{P}_2\text{O}_5 - 24.4\text{Na}_2\text{O}$ (mol %) <sup>[113]</sup>	$\bar{G}_0 = 3 \mu\text{m}$	800-1000	350
$54\text{SiO}_2-21\text{CaO}-21\text{MgO}-\text{Al}_2\text{O}_3$ (mol %) <sup>[106]</sup>	$\bar{G}_0 = 75-125 \mu\text{m}$	673-698	621
$56\text{SiO}_2 - 32\text{CaO} - 7\text{Al}_2\text{O}_3 - 5\text{Na}_2\text{O}$ (% pond.) <sup>[114]</sup>	$\bar{G}_0 < 38 \mu\text{m}$	678-861	875

VAC – Velocidade de aquecimento constante;  $\bar{G}_0$  - tamanho médio inicial de partícula.

## **II – PROCEDIMENTO E TÉCNICAS EXPERIMENTAIS**

---





## 1. Preparação e caracterização das matérias-primas

### 1.1. Matérias-primas

Para a preparação do vidro com a composição ponderal 54.89% $3\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5$ -24.81% $\text{SiO}_2$ -20.30% $\text{MgO}$  foram seleccionadas as matérias-primas indicadas na tabela 2-1.

**Tabela 2-1:** Caracterização das matérias-primas utilizadas no fabrico de vidro.

Matérias-primas	Marca Comercial	Pureza
$\text{SiO}_2$	BDH	Puro
$\text{MgO}$	Fluka	$\geq 99\%$
$\text{CaCO}_2$	Fluka	$\geq 99\%$
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Fluka	$\geq 99\%$

Como porogénio foi utilizado o cloreto de sódio, fornecido pela BDH, com grau de pureza de 99%. A função do sal é actuar como uma fase intercalar entre as partículas de vidro que possa ser facilmente removida, por dissolução, após a consolidação térmica da peça.

### 1.2. Preparação da frita

Os reagentes nas devidas proporções foram misturados com álcool etílico e homogeneizados num moinho planetário durante 45 minutos. Após uma etapa de secagem durante 24 horas a 65 °C, a mistura de matérias-primas foi fundida num forno eléctrico, em cadinho de platina, a uma temperatura de 1500 °C. O fundido foi vertido para água, de modo a evitar a cristalização superficial, obtendo-se assim uma frita. A frita foi analisada por difracção de raios X (DRX), de modo a verificar a ausência de fases cristalinas.

A frita obtida foi submetida a moagem. Esta etapa foi efectuada segundo um processo de moagem por via húmida com utilização de álcool, durante um período de 6 horas, num moinho planetário com bolas de ágata.

Após secagem, durante 24 horas a 60 °C, as partículas foram separadas numa tela de nylon com uma malha de 20 µm, e seguidamente guardadas em frasco de plástico num exsiccador até posterior utilização.

### ***1.3. Caracterização da frita e do porogénio***

#### ***1.3.1. Análise granulométrica***

A avaliação da distribuição do tamanho das partículas do vidro foi feita mediante o princípio de difracção laser num equipamento Coulter LS Particle Size Analyser 230.

A análise granulométrica do cloreto de sódio foi realizada por peneiração, com cortes a 75, 150, 212 e 355 µm.

#### ***1.3.2. Análise Superficial Específica***

As áreas superficiais específicas dos pós de vidro e de sal foram determinadas pelo método de adsorção física do gás azoto, desenvolvido por Brunauer, Emmett e Teller (BET). Para a realização desses ensaios foi utilizado um equipamento Quantasorb da QuantaChrome. Antes da determinação do volume de gás adsorvido, os pós permaneceram em vácuo a 200 °C durante 4 horas.

#### ***1.3.3. Análise microestrutural***

A caracterização microestrutural dos pós de vidro e do sal foi efectuada por microscopia electrónica de varrimento (SEM), num microscópio da HITACHI, modelo S-4100, provido de um detector de electrões secundários, EDS, com uma voltagem de aceleração fixada em 25 KeV.

Para a observação dos pós de vidro utilizou-se uma gota de suspensão de pó (0.1g/10ml de 2-propanol) depositada num porta-amostras de alumínio, plano e polido, e seguidamente seca em estufa a 60 °C. Para a observação dos pós de cloreto de sódio, estes foram depositados numa fita-cola de dupla face de carbono. Ambas as amostras foram revestidas com um filme fino de carbono, por deposição, num equipamento EMITECH K950.

#### ***1.3.4. Análise Térmica Diferencial e Termogravimétrica***

A análise térmica diferencial (ATD) e termogravimétrica (ATG) do vidro e do sal foram efectuadas num equipamento Seteram Labsys DTA/TG-DSC, com uma velocidade de aquecimento

de 5 °C min<sup>-1</sup>, desde 25 a 1000 °C. Estas análises tiveram como objectivo identificar a natureza das reacções que podem acontecer no aquecimento e as temperaturas relevantes a que ocorrem as principais transformações e, investigar a variação de massa deste material em função do aumento da temperatura.

### 1.3.5. *Análise Dilatométrica*

A variação dimensional com a temperatura de prensados de frita e de prensados de sal foi caracterizada, até 800 °C, por dilatometria. A técnica de dilatometria consiste na medida das variações dimensionais da amostra *in situ* com a variação de temperatura. Para efectuar estas medidas, o equipamento dispõe de uma haste de alumina ou sílica que é colocada em contacto com a amostra aplicando uma ligeira pressão. O tubo de alumina ou sílica, dentro do qual são inseridos a amostra e o porta-amostras, é aquecido e a haste transmite a variação dimensional do corpo na direcção em que está apoiada. Um termopar localizado próximo da amostra mede a temperatura. Os dados de comprimento versus tempo ou temperatura são colectados por um microcomputador e, conhecendo-se o comprimento inicial, é possível calcular a retracção linear. A retracção linear ( $y$ ) é calculada pela equação 2.1, sendo  $L_0$  o comprimento inicial da amostra e  $L_f$  o comprimento final.

$$y = \frac{\Delta L}{L_0} = \frac{L_f - L_0}{L_0} \quad (\text{Eq. 2.1})$$

O dilatómetro usado foi um dilatómetro horizontal Bahr Thermo Analyse, de vareta de sílica. Este equipamento é constituído por um forno com resistência de carboneto de silício capaz de atingir 1600 °C.

### 1.3.6. *Densidade*

A determinação da densidade real do vidro foi feita com recurso ao picnómetro de hélio da Micromeritics, modelo Accupyc 1330.

O picnómetro é constituído por duas células de volume conhecido, ligadas entre si, uma para colocar a amostra a analisar ( $V_c$ ) e a outra designada de expansão ( $V_r$ ), onde se faz a admissão de hélio por uma válvula, estando as duas células no início do ensaio à pressão atmosférica. Durante o ensaio, ao fechar a válvula, a pressão interna ( $P_1$ ) da célula que contém a amostra aumenta devido à injeção do hélio. Quando a válvula é aberta diminui a pressão ( $P_2$ ). O volume ocupado pela amostra ( $V_a$ ) é determinado pela equação 2.2:

$$Va = Vc - Vr \times \left[ \left( \frac{P_1}{P_2} \right) - 1 \right] \quad (\text{Eq. 2.2})$$

## **2. Preparação dos suportes porosos (“scaffolds”)**

### **2.1. Misturas de vidro/sal**

Para o processamento dos compactos vidro/sal foram efectuadas misturas com diferentes proporções de NaCl (granulometria 212-355 µm).

Prepararam-se oito misturas diferentes, com os seguintes teores de cloreto de sódio: 0, 10, 30, 50, 60, 70, 90 e 100 % ponderal.

A mistura foi efectuada manualmente, utilizando como recipientes, frascos de polipropileno que foram guardados em exsiccador até à sua utilização.

### **2.2. Prensagem**

Foram efectuados ensaios de prensagem de modo a conhecer a pressão mais adequada e a necessidade ou não de utilização de aditivos de prensagem. As amostras foram conformadas por prensagem uniaxial, usando para isso uma prensa hidráulica CARVER Laboratory Press-Model C, numa gama de pressões entre 10 e 60 MPa, durante 60 segundos. As pastilhas com 10 mm de diâmetro e aproximadamente 10 mm de espessura, mesmo prensadas às pressões mais baixas podiam ser manuseadas sem se danificarem, não sendo por isso necessária a utilização de aditivos de prensagem. A densidade das amostras foi determinada pela medida das dimensões geométricas.

### **2.3. Sinterização**

O estudo da sinterização para estabelecer as melhores condições de ciclo térmico, foi feito a partir de ensaios de dilatometria no dilatómetro Bahr Dil 801L, já referido em 1.3.5.

Os ensaios dilatométricos foram efectuados à taxa de aquecimento constante de 5 °C min<sup>-1</sup> até a temperatura de 800 °C ao ar.

Tendo em vista o estudo da cinética de sinterização do vidro e da mistura vidro/sal, foram efectuados ensaios com diferentes velocidades de aquecimento (2, 5, 10 e 20 °C min<sup>-1</sup>) até uma temperatura máxima de 800 °C. A temperatura máxima de sinterização usada nos ensaios dilatométricos foi imposta pela temperatura de fusão do sal utilizado (800°C).

Foi estudada também a evolução da retracção e densificação a temperaturas constantes, para tempos de patamar que variaram entre 0 e 15 minutos a temperaturas seleccionadas de 750 e 760 °C. O aquecimento até estas temperaturas decorreu a 5 °C min<sup>-1</sup>.

## **2.4. Lixiviação**

A lixiviação tem por principio a remoção da fracção salina de forma a gerar uma estrutura com poros interconectados. As amostras foram colocadas num banho de água tépida (30 °C) durante 3 dias. A água foi mudada com intervalo de 1 hora nas primeiras 12 h e de aproximadamente 12 h no período restante. O controlo da lixiviação do sal foi efectuado através do acompanhamento da variação de peso após secagem das amostras.

## **3. Caracterização dos Compactos**

Os compactos em verde, sinterizados e após lixiviação, foram caracterizados recorrendo a várias técnicas de análise de materiais.

### **3.1. Densidade**

Os compactos de pós em verde, sinterizados e após lixiviação foram caracterizados por medidas de densidade, determinadas geometricamente a partir da medida das suas dimensões com micrómetro de precisão de  $\pm 0.005$  mm e da massa medida numa balança digital com precisão de  $\pm 0.001$  g.

A densidade teórica dos compactos em verde e sinterizado, antes da lixiviação, foi calculada pela regra das misturas, equação 2.3, tendo em conta a densidade real determinada para os pós de vidro e tabelada para o cloreto de sódio<sup>[115]</sup>.

$$\frac{1}{\rho_{t,m}} = \frac{f_{sal}}{\rho_{sal}} + \frac{f_{fr}}{\rho_{fr}} \quad (\text{Eq. 2.3})$$

Em que:  $\rho_{t,m}$  - densidade teórica da mistura,  $\rho_{sal}$  - densidade do sal,  $\rho_{fr}$  - densidade da frita,  $f_{fr}$  - fracção volúmica da frita e  $f_{sal}$  - fracção volúmica do sal.

### 3.2. Difracção de raios X

A caracterização cristalográfica dos suportes foi efectuada num difractómetro Rigaku Geigerflex D/Max-SérieC, equipado com um monocromador curvo de grafite, utilizando radiação  $\text{CuK}\alpha$ . A técnica de difracção de raios-X (DRX) foi utilizada para verificar a existência ou não de fases cristalinas no pó de vidro sinterizado, após desagregação num almofariz de ágata. A identificação de fases cristalinas foi feita recorrendo à base de dados PDF (Powder Diffraction File) disponibilizada pelo JCPDS/ICDD (Joint Committee on Powder Diffraction Standards/International Centre for Diffraction Data; Swarthmore, Pensilvânia, EUA).

### 3.3. Área superficial específica (BET)

A área superficial específica dos suportes foi realizadas pelo método referido na secção 1.3.2, utilizando-se os suportes porosos após lixiviação sem recorrer à redução a pó. Antes da determinação do volume de gás adsorvido, os suportes permaneceram em vácuo a 200 °C durante 4 horas.

### 3.4. Absorção de água

Medidas de percentagem de absorção de água foram realizadas nas amostras sinterizadas e lixiviadas. A massa das amostras lixiviadas foi medida sob várias condições: a seco (Ps) e em húmido (Ph). As medidas da massa a húmido foram efectuadas após imersão em água, retirando o excesso de água da superfície da amostra com um papel comum, não muito absorvente. A absorção de água (AA) é dada pela equação 2.4:

$$\% AA = \left[ \frac{(P_h - P_s)}{P_s} \right] \times 100 \quad (\text{Eq. 2.4})$$

Em todas as determinações foram utilizadas pelo menos 3 amostras.

### **3.5. Microscopia Electrónica de Varrimento/ EDS**

A observação microestrutural da superfície de fractura das amostras foi efectuada por microscopia electrónica de varrimento no equipamento referido na secção 1.3.3. As amostras foram fixadas com cola de carbono (Neubauer Chemikalien, Münster, Alemanha), e posteriormente revestidas com um filme de carbono, obtido num depositador de carbono (EMITECH K950). Após análise por EDS, a maioria das amostras necessitou da deposição de um filme de ouro feita por bombardeamento, utilizando árgon como gás inerte, num aparelho POLARON E500, com aplicação de uma corrente de intensidade de 12 mA durante cerca de 3 minutos. A deposição da camada de ouro foi necessária para a visualização de certos aspectos microestruturais não observáveis com a deposição de carbono. A técnica de EDS foi utilizada apenas em amostras com cobertura de filme de carbono amorfo, evitando-se deste modo uma possível interferência por sobreposição parcial do pico correspondente ao ouro.

### **3.6. Porosimetria de mercúrio**

Foi efectuada a caracterização da distribuição de tamanho de poros da amostra através da técnica de porosimetria de mercúrio. O equipamento utilizado foi o Poresizer 9320 da Micromeritics que opera numa gama de pressões compreendida entre 0.5 e 30 000 psia, permitindo assim a intrusão de mercúrio em poros de diâmetro compreendido entre 360 µm, para a pressão mínima e 60 Å, para a pressão máxima. Esta técnica foi efectuada no Instituto Pedro Nunes em Coimbra.

### **3.7. Resistência mecânica à compressão**

As amostras lixiviadas, com dimensões de 10 mm de diâmetro x 10 mm de espessura, foram submetidas a ensaios de compressão num equipamento universal de ensaios mecânicos

Zwick/Roell Z020, com velocidade de aplicação de carga de  $0.5 \text{ mm min}^{-1}$  e uma célula de carga 20 KN. Foram utilizadas dez amostras e as barras de erro apresentadas no gráfico representam o desvio padrão da média.

### **3.8. Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)**

Várias técnicas de espectroscopia têm sido utilizadas para o estudo das modificações estruturais nos vidros. A espectroscopia de infravermelho (IV) por transformada de Fourier é um método de caracterização usado para determinar a composição química dos materiais em estudo, com base nas bandas de absorção do espectro. Esta técnica foi utilizada para identificar pormenores da estrutura molecular em espécimes porosos de vidros, tratadas a 450 e 750°C, com e sem sal. As amostras foram moídas e secas para a confecção de pastilhas com brometo de potássio (KBr). O intervalo espectral analisado compreendeu a região entre 400 e 4000  $\text{cm}^{-1}$ , com uma resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , utilizando pastilhas de brometo de potássio (KBr). O equipamento utilizado foi um Espectrómetro BRUKER IFS 28 EQUINOX, disponibilizado pela Universidade de Vigo.

## **4. Ensaios de mineralização *in vitro***

A utilização de soluções que simulam o fluido fisiológico (SBF) acelular e aprotéico, permite avaliar, *in vitro*, a capacidade dos materiais de precipitar fosfatos de cálcio à sua superfície ou seja, avaliar o seu potencial bioactivo. Para estes ensaios preparou-se em laboratório uma solução inorgânica simuladora da composição iónica do plasma humano, para a qual é necessária a adição de reagentes segundo a ordem indicada na tabela 2-2, em água ultra-pura, de acordo com um procedimento análogo ao sugerido por Kokubo *et al.* <sup>[116,117]</sup>

A adição de cerca de metade de HCl é feita antes da adição dos sais de magnésio e de cálcio impedindo a precipitação de fosfatos destes catiões. O acerto final do pH para valores de 7.4 (pH fisiológico) é feito pela adição restante do ácido. A tamponização com *tris* garante a manutenção do pH da solução a um nível praticamente constante.



**Tabela 2-2:** Ordem da adição e quantidade de reagentes usados na preparação de SBF.

Ordem	Reagentes	Quantidade para um litro de solução
1	NaCl	7.996 g
2	NaHCO <sub>3</sub>	0.350 g
3	KCl	0.224 g
4	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O	0.228 g
5	HCl (1M)	40 mL ( $\approx$ 90% do volume total)
6	MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.305 g
7	CaCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.548 g
8	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.071 g
9	NH <sub>2</sub> C(CH <sub>2</sub> OH) <sub>3</sub>	6.057 g

Na tabela 2-3 apresentam-se as concentrações iónicas, mMol l<sup>-1</sup>, a título comparativo, relativas ao plasma humano e à solução SBF.

**Tabela 2-3:** Concentrações iónicas, mMol l<sup>-1</sup>, presentes no plasma sanguíneo humano e na solução sintética de SBF.

	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
<b>Plasma</b>	142.0	5.0	2.5	1.5	103.0	27.0	1.0	0.5
<b>SBF</b>	142.0	5.0	2.5	1.5	147.8	4.2	1.0	0.5

Os testes de mineralização foram efectuados por imersão de amostras lixiviadas sob a forma de espécimes prismáticos em SBF, a 37 °C, para diferentes intervalos de tempo (1, 24, 72, 168, 336 h). O volume de solução de SBF empregue no ensaio de bioactividade dependeu da área superficial da amostra. Uma relação entre a área superficial da amostra e o volume de solução SBF (SA/V) igual a 0.1 cm<sup>-1</sup> representa um ambiente satisfatório para implante. <sup>[118]</sup>

As camadas de apatite depositadas sobre os suportes porosos de vidro foram observadas por SEM/EDS. As amostras após lavagem, secagem e pesagem, foram reduzidas a pó para análise por DRX.

#### **4.1. Testes de degradação em SBF**

Os testes de degradação foram efectuados em SBF a 37 °C durante o período de duas semanas. Após os tempos de imersão seleccionados para os testes de mineralização, as amostras foram retiradas, lavadas, colocadas a secar e, pesadas de modo a determinar a sua perda de peso. A perda de peso,  $\Delta W$ , do vidro foi determinada, segundo a equação 2.5:

$$\% \Delta W = \left[ \frac{(W_0 - W_f)}{W_o} \right] \times 100 \quad (\text{Eq. 2.5})$$

Onde,  $W_0$  - Peso inicial e  $W_f$  - Peso final

O pH da solução foi determinado para os mesmos intervalos de tempo (1, 24, 72, 168, 336 h), do teste de mineralização.

#### **4.2. Espectroscopia de Emissão por Plasma Induzido acoplado (ICP)**

A determinação analítica da concentração dos elementos presentes em solução foi feita por espectroscopia de emissão por plasma induzido acoplado (ICP) num espectrofotómetro Jobin Yvon 70 Plus, França, no Laboratório Central de Análises da Universidade de Aveiro. Até à realização das análises, a solução SBF, bem como as amostras recolhidas após o término de cada ensaio, foram conservadas a  $\sim 4$  °C, em recipientes de polipropileno.

### **III – APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS**

---



## 1. Caracterização do vidro e do sal

Neste capítulo fez-se a caracterização morfológica e granulométrica, a determinação da densidade e a caracterização do comportamento térmico dos pós de vidro e do porogéneo usados na preparação dos suportes porosos.

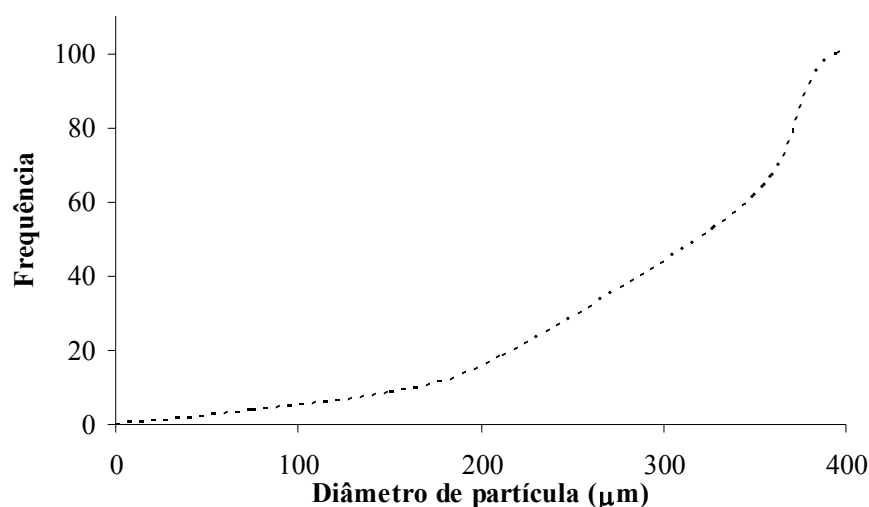
### 1.1. Morfologia e distribuição granulométrica do sal

Através da análise granulométrica, por peneiração, do cloreto de sódio, figura 3.1, observou-se que o cloreto de sódio tem uma distribuição de partículas diferenciada, estando cerca de 44 % entre 212 a 355  $\mu\text{m}$  e de 38 % acima dos 355  $\mu\text{m}$ . Para este trabalho foram seleccionadas as gamas de tamanho de partícula entre 212 a 355  $\mu\text{m}$ , tabela 3.1.

**Tabela 3-1:** Quadro resumo da caracterização física do vidro e do sal.

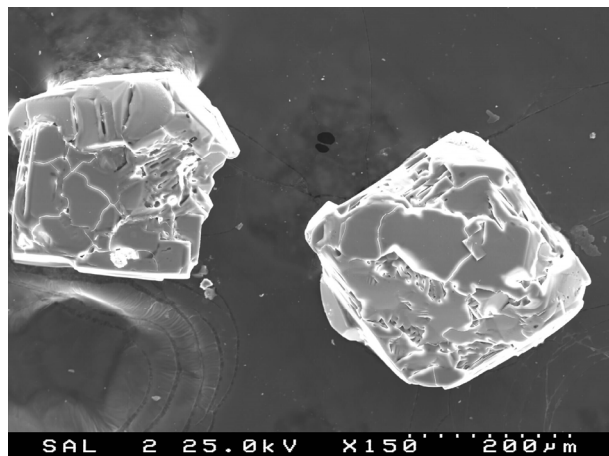
	<b>P</b> (g/cm <sup>3</sup> )	<b>ASE</b> (m <sup>2</sup> /g)	<b>D<sub>0</sub></b> ( $\mu\text{m}$ )	<b>Tg (°C)</b> ATD	<b>Tc (°C)</b> ATD	<b><math>\alpha_{100-400}</math></b> (10 <sup>-6</sup> °C <sup>-1</sup> )
Vidro	2.6	0.8	6.8**	730	817	8
Sal	2.16*	-	212-355***	-	-	43

$\rho$  – Densidade; ASE – Área Superficial específica; D<sub>0</sub> – tamanho médio de partícula; Tg – Temperatura de transição vítrea; Tc – Temperatura de cristalização;  $\alpha$ -Coeficiente de expansão térmica; \*Fornecido pelo fabricante, \*\* Coulter e \*\*\* peneiração.



**Figura 3-1:** Distribuição granulométrica cumulativa do tamanho de partícula do cloreto de sódio.

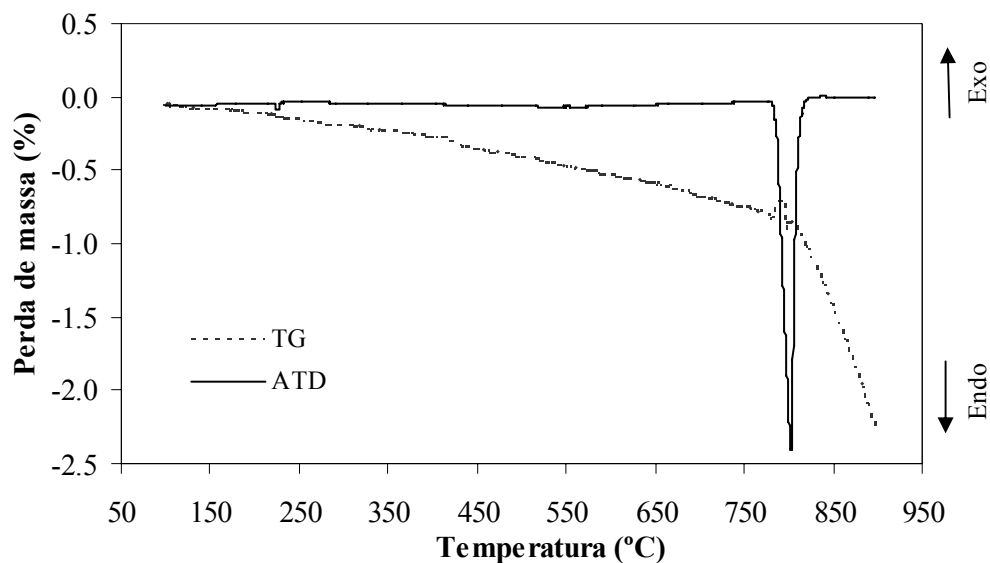
As partículas de sal observadas em SEM, figura 3.2, apresentam aspecto poliédrico e mostram ser constituídas por agregados de partículas menores.



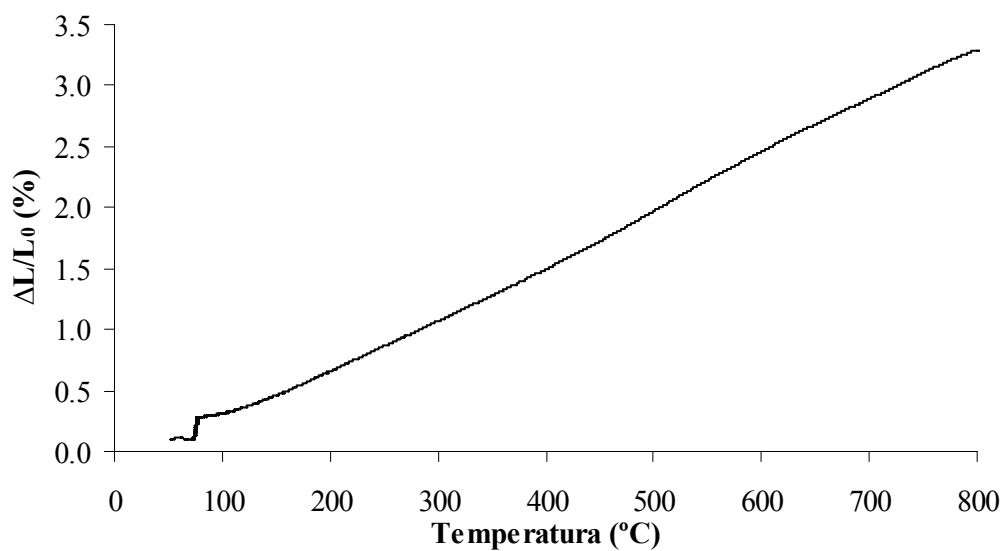
**Figura 3-2:** Micrografia obtida por SEM das partículas de sal.

## 1.2. Comportamento térmico do sal

A figura 3-3 apresenta a curva de ATD e de ATG para o cloreto de sódio obtida a uma taxa de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ . A ATD do cloreto de sódio apresenta um pico endotérmico correspondente à temperatura de fusão a  $\sim 800\text{ }^{\circ}\text{C}$ . A ATG do cloreto de sódio indica que até à temperatura de  $800\text{ }^{\circ}\text{C}$ , o sal perde aproximadamente 1% da sua massa. A perda de massa acentua-se para temperaturas superiores às de fusão. A curva de expansão térmica linear de um prensado de sal, figura 3-4, apresenta até  $\sim 800\text{ }^{\circ}\text{C}$  uma expansão de cerca 3.5 %, à qual corresponde um coeficiente de expansão de  $43 \times 10^{-6}\text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$ . Não se observa até  $800\text{ }^{\circ}\text{C}$ , qualquer indício de densificação do compacto.



**Figura 3-3:** Curva de análise termogravimétrica e térmica diferencial de um compacto de sal.

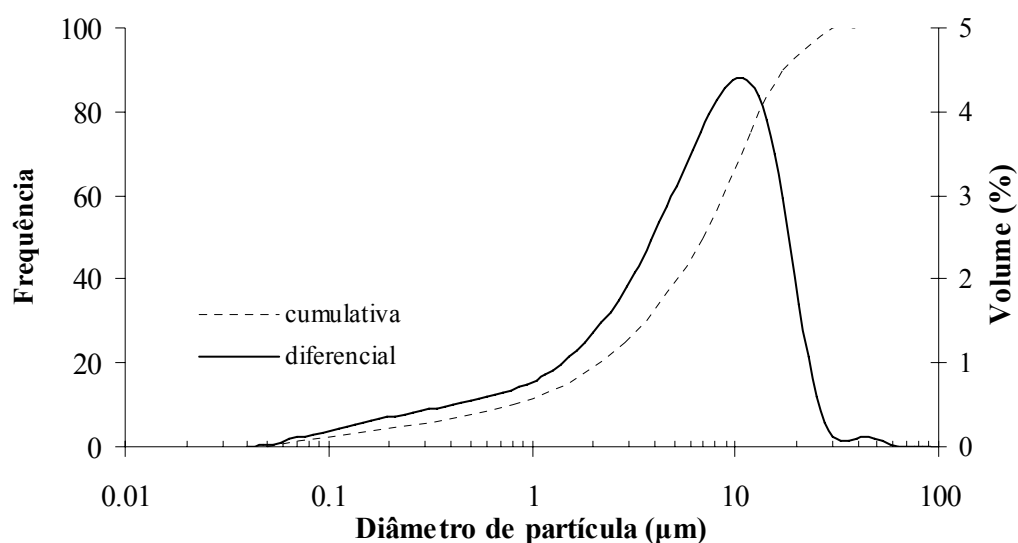


**Figura 3-4:** Análise dilatométrica de um compacto de sal para a taxa de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .

Resumem-se na tabela 3-1 os dados relativos à caracterização do sal, com o valor da densidade teórica, fornecida pelo fabricante.

### 1.3. Distribuição granulométrica, área de superfície específica e morfologia da frita

A curva de distribuição granulométrica das partículas de vidro, após moagem e peneiração, determinada pela técnica de Coulter Counter, está representada na Figura 3-5. É possível observar uma distribuição larga, com partículas de tamanho variando entre 0.04 a ~ 20  $\mu\text{m}$ . A partir destes resultados foi determinado o tamanho médio de partícula a 50 % vol. da distribuição, tendo sido encontrado o valor de 6.8  $\mu\text{m}$ .

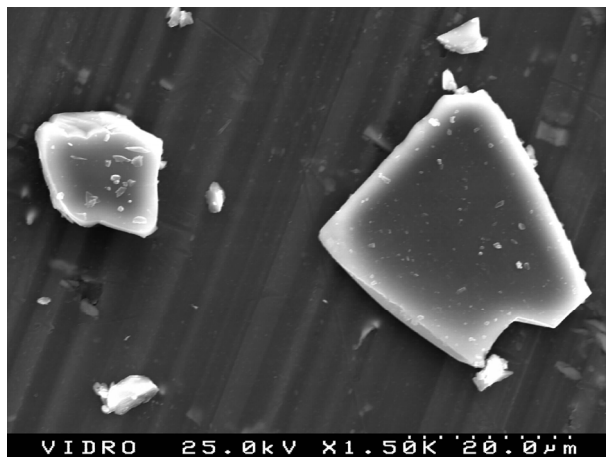


**Figura 3-5:** Distribuição granulométrica das partículas de vidro, após moagem.

A área de superfície específica (ASE) foi determinada por adsorção gasosa de  $\text{N}_2$ , segundo o método de BET, tendo-se encontrado o valor de 0.8  $\text{m}^2/\text{g}$  para o vidro moído, como referenciado na tabela 3-1.

Por observação, na figura 3-6, da micrografia obtida por SEM dos pós de vidro, após moagem, é possível verificar que estes são constituídos predominantemente por partículas angulosas, de forma irregular e com uma distribuição larga de tamanhos.





**Figura 3-6:** Micrografia obtida por SEM das partículas de vidro.

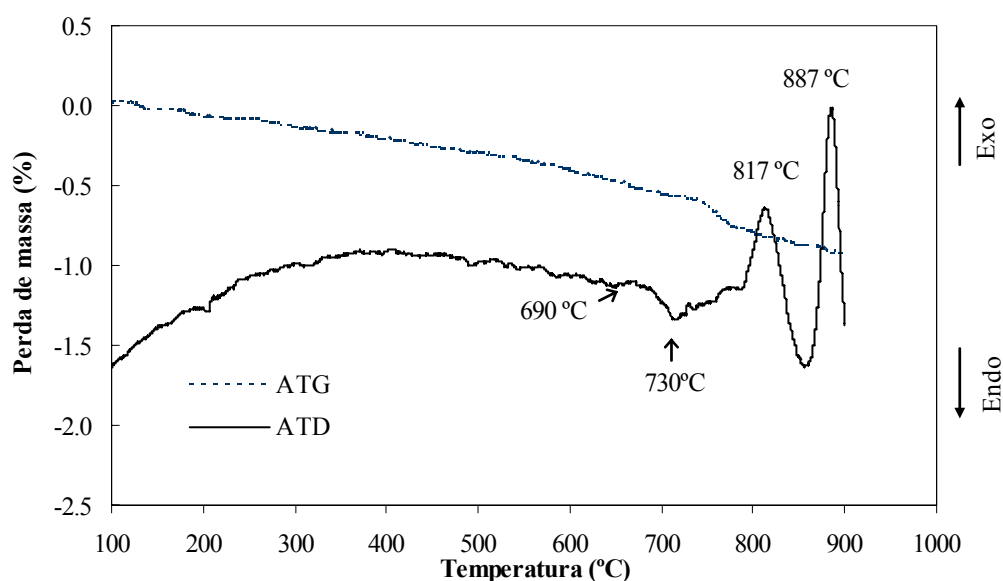
#### **1.4. Comportamento térmico do vidro**

A figura 3-7 apresenta a curva de ATD para o pó de vidro obtida a uma taxa de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ . Verifica-se o início de uma deflexão endotérmica no intervalo de  $690\text{--}730\text{ }^{\circ}\text{C}$ , na qual deve situar-se a temperatura de transição vítrea. Posteriormente são observados dois picos exotérmicos associados a fenômenos de cristalização do vidro a  $817$  e  $887\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

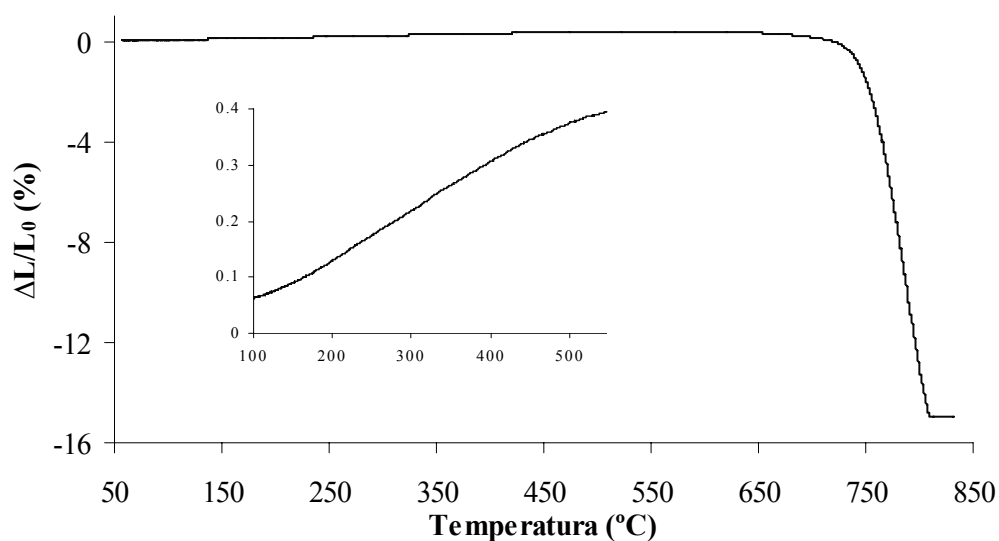
A curva de ATG mostra uma perda de massa muito reduzida até  $\sim 730\text{ }^{\circ}\text{C}$  que se acentua a essa temperatura e que volta a ocorrer com uma velocidade inferior quando se inicia a cristalização a  $\sim 770\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

A figura 3-8 apresenta a curva dilatométrica de um compacto de pó de vidro aquecido a  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  até à temperatura máxima de  $825\text{ }^{\circ}\text{C}$ . A curva dilatométrica não permite a identificação clara dos valores de temperatura de amolecimento dilatométrico do vidro mas, o início da retracção a  $\sim 650\text{ }^{\circ}\text{C}$  indicia um comportamento viscoso do compacto. O coeficiente de expansão térmica do vidro foi determinado a partir da curva, no intervalo entre  $100\text{--}400\text{ }^{\circ}\text{C}$ , tendo sido obtido o valor de  $8 \times 10^{-6}\text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$ .

Verifica-se que a partir de  $\sim 800\text{ }^{\circ}\text{C}$  a densificação pára bruscamente, o que é característico do processo de cristalização<sup>[100]</sup> em bom acordo com os resultados de ATD, fig. 3-7.



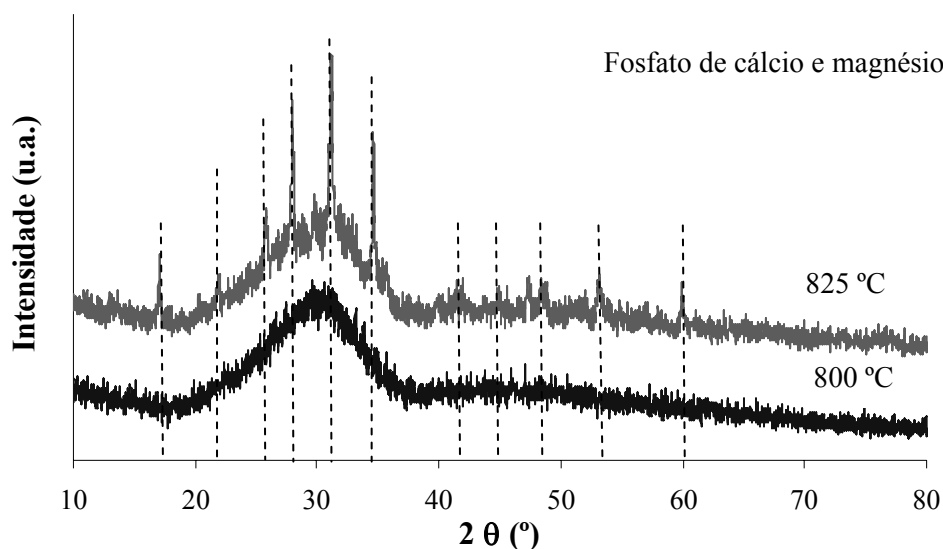
**Figura 3-7:** Curva de análise termogravimétrica e térmica diferencial do vidro.



**Figura 3-8:** Análise dilatométrica do vidro para a taxa de aquecimento de 5 °C min<sup>-1</sup>.

Com o objectivo de avaliar quantitativamente o nível de desvitrificação ou formação de fases cristalinas no compacto de vidro submetido ao tratamento anterior ( $T = 825\text{ °C}$ ), foi efectuada uma difracção de raios X dos pós de vidro. Observa-se, na figura 3-9, a formação incipiente de fosfato de cálcio e magnésio. Tendo em atenção que, quando se adicionar o cloreto de sódio não é possível utilizar temperaturas acima dos 800 °C, uma vez que a esta temperatura o sal funde, foi também

efectuada uma análise por difracção de raios X a um compacto sinterizado até à temperatura de 800 °C, verificando-se que a esta temperatura o compacto se apresenta como amorfo.



**Figura 3-9:** Difractograma dos compactos de vidro sinterizados às temperaturas indicadas.

## 2. Estudo das condições de preparação dos suportes porosos

Investigou-se nesta secção o método de preparação de suportes tendo como variáveis a percentagem de sal e as condições do ciclo térmico.

### 2.1. Variação da percentagem do sal

A figura 3-10 apresenta as curvas dilatométricas dos compactos prensados a 21 MPa, com diferentes teores em sal (10, 30, 50, 60, 70, 90 %) e aquecidos a 5 °C min<sup>-1</sup> até à temperatura máxima de 800 °C. Para comparação são também apresentadas as curvas dilatométricas do compacto com 100 % vidro e 100 % de sal, nas mesmas condições de ciclo térmico.

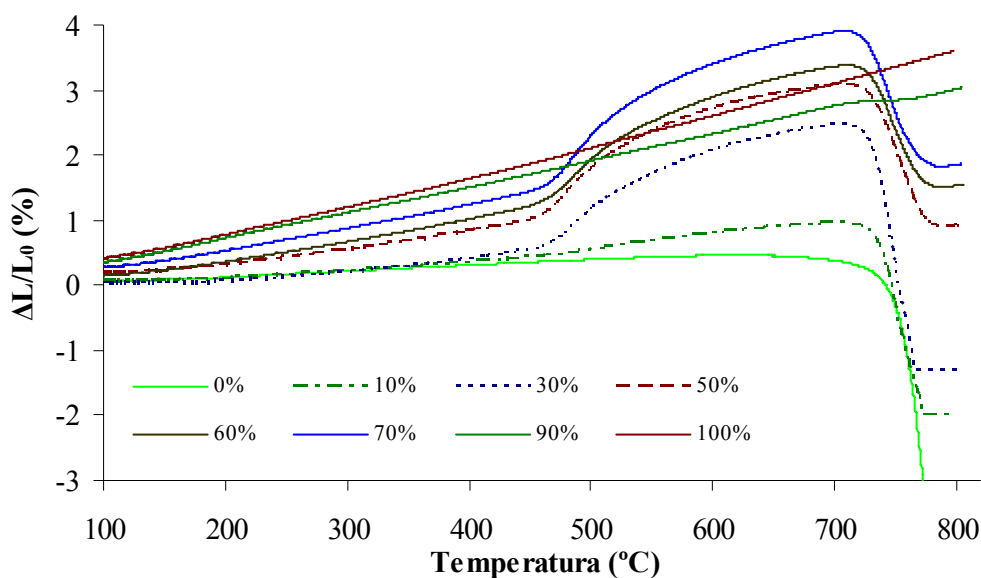
Observa-se que a adição de sal produz um aumento da percentagem de expansão dos compactos, tal como era esperado pelo elevado coeficiente de expansão térmico do sal, tabela 3-1, que apresenta um valor bastante superior ao do vidro. Adicionalmente e para teores de sal entre 30 e 70 % e temperaturas na gama dos 450 até ~ 720 °C, verifica-se a perda do comportamento aproximadamente linear da expansão em função da temperatura, apresentando as curvas uma

acentuada expansão naquela gama de temperaturas. A amostra com 90 % de teor de sal apresenta um comportamento dilatométrico idêntico ao do compacto constituído apenas por sal sem o referido efeito da expansão. A origem desta expansão foi investigada e os resultados serão apresentados adiante, na secção 2.2.

Verifica-se que a retracção total diminui progressivamente com o aumento do teor de sal adicionado, sugerindo que a presença de inclusões dificulta a ocorrência do escoamento viscoso do vidro. Quando sinterizado até 800 °C o vidro apresentava uma retracção de ~ 15 %, figura 3-8, enquanto os compactos com 30 % de sal apresentam retracções de ~ 4 % e, acima desta percentagem, entre 50 a 70% de sal, os compactos apresentam retracções de ~ 2 %. Estes valores de retracção total são calculados considerando a diferença entre o valor da expansão máxima e o valor da expansão mínima para  $T \geq 700$  °C na curva dilatométrica.

Os resultados apresentados confirmam que a presença de uma maior quantidade de inclusões rígidas dificulta o escoamento viscoso e consequentemente a densificação do compacto.

Na tabela 3-2 estão reunidos os valores obtidos na caracterização física de compactos em verde, de compactos sinterizados e dos suportes porosos após a lixiviação.



**Figura 3-10:** Análise dilatométrica dos compactos com diferentes percentagens de sal em função da temperatura, com taxa de aquecimento de 5 °C min<sup>-1</sup>.

**Tabela 3-2:** Caracterização dos compactos em estudo, sinterizados até 800 °C, com uma taxa de aquecimento de 5 °C min<sup>-1</sup>.

Amostra		Verde		Sinterizadas			Lixiviadas				
% sal	$\rho_{t,m}$	$\rho_v$ (g/cm <sup>3</sup> )	$d_v$ (%)	$\rho_s$ (g/cm <sup>3</sup> )	$\Delta m/m_0$ (%)	$d_s$ (%)	$\rho_l$ (g/cm <sup>3</sup> )	$d_l$ (%)	%P	A.A. %	$\varphi$ (%)
10	2.55	1.79	70	1.75	0.91	69	1.70	65	35	17	1.27
30	2.45	1.87	76	1.84	1.55	75	1.40	54	46	24	7.82
50	2.36	1.84	78	1.71	1.32	72	0.93	36	64	56	0.33
60	2.32	1.92	83	1.74	0.07	75	0.78	30	70	57	0.65
70	2.28	1.92	84	1.82	0.95	80	0.40	15	85	74	0.01
90	2.20	1.90	86	1.86	0.01	85	-	-	-	-	-

$\rho$  – densidade,  $d$  - densidade relativa,  $P$  - porosidade, A.A- absorção de água,  $\varphi$ - fracção de sal. Os índices t,m, v, s e l referem-se a teórico, mistura, verde, sinterizado e após lixiviação respectivamente.

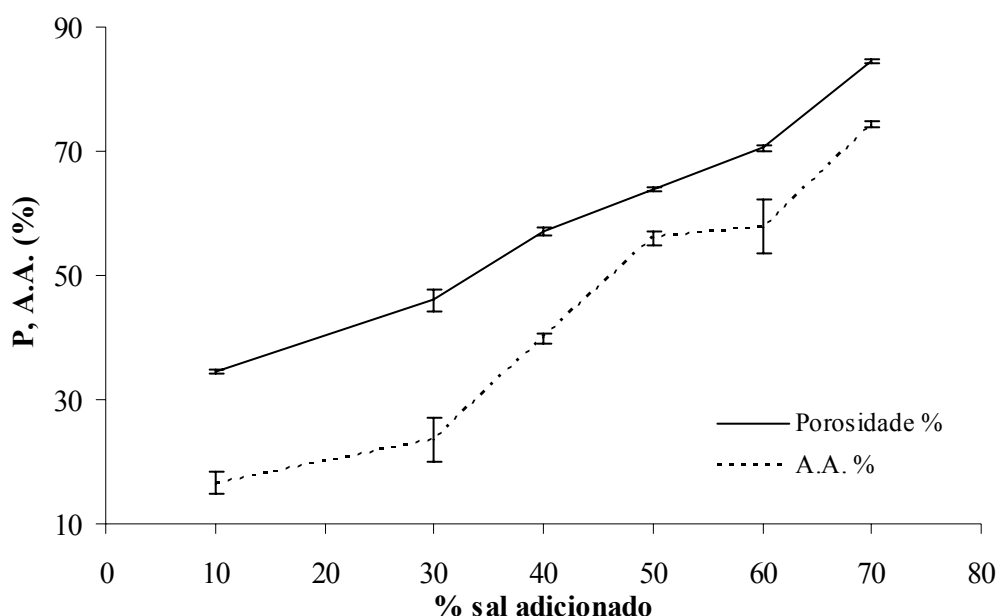
Verifica-se na tabela que, o aumento do teor de sal, melhora o empacotamento das misturas devido à razão entre o tamanho de partículas do vidro e do sal, o que causa o aumento da densidade dos compactos em verde. Após sinterização as densidades apresentam valores ligeiramente mais baixos do que nos compactos em verde o que se pode atribuir às perdas de peso durante a sinterização e ao fenómeno de expansão observado nos compactos com 30 a 70 % de sal. Por esse motivo estes compactos tendem a apresentar um decréscimo mais acentuado da densidade relativa após a sinterização.

Com o aumento do teor de sal adicionado, grande parte das partículas de sal ficam em contacto entre si. As partículas de sal presentes nos sinterizados podem ser por isso maioritariamente dissolvidas com a lixiviação. Apenas uma pequena fracção residual de sal, cerca de 0.01-0.65 % para percentagens de sal adicionado superior a 50 %, está presente na estrutura final. A fracção de sal residual presente na amostra, após lixiviação, pode ser determinada para controlo do grau de dissolução do sal, através da equação 3.1.

$$\varphi = \frac{W_l - W_s \cdot f_{fr}}{W_l} \quad (\text{Eq. 3.1})$$

Em que  $W_l$ - peso após lixiviação,  $W_s$ - peso do compacto e  $f_{fr}$ - fracção volúmica da frita.

Na figura 3-11 estão representadas a porosidade e a percentagem de absorção de água dos suportes sinterizados a 800 °C, após lixiviação, em função das diferentes percentagens de cloreto de sódio adicionado. Com a adição de maior quantidade de sal a porosidade dos suportes aumenta, apresentando valores de porosidade entre os 34 e 85 %, atingindo-se para um volume de 50 % uma porosidade na ordem dos  $64 \pm 0.3$  %. Para este volume de sal, é atingido um valor de  $56 \pm 1.2$  % de absorção de água, o que indica que quase todo o volume de poros existente se encontra aberto. Para um maior volume de sal adicionado, o volume de porosidade obtido continua a aumentar.



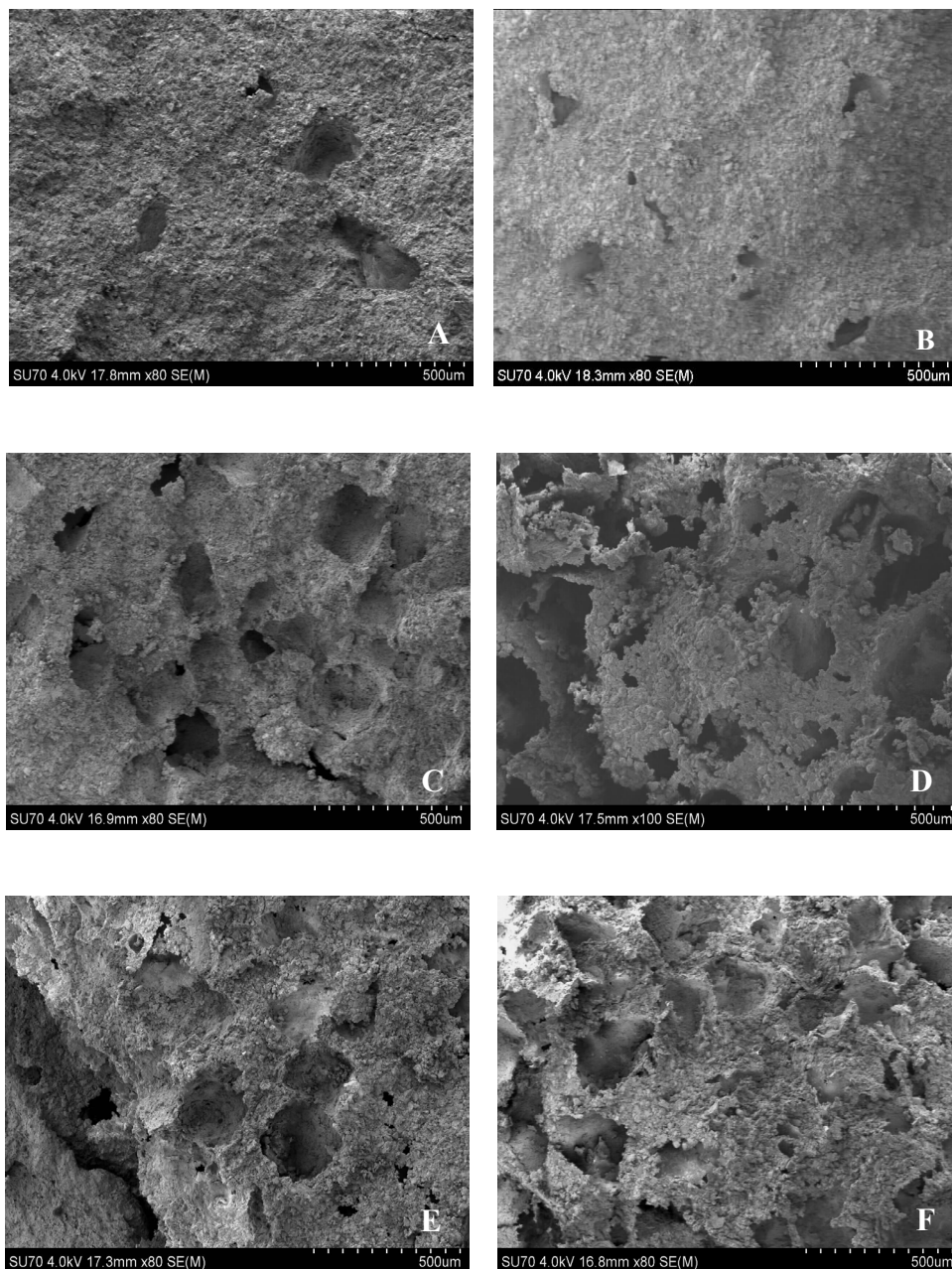
**Figura 3-11:** Variação da porosidade total e da percentagem de absorção de água em função da percentagem de sal adicionada.

Na figura 3-12 estão representadas as micrografias das estruturas de vidro porosas obtidas por lixiviação dos compactos sinterizados, com diferentes percentagens de sal.

Observa-se que tal como representado na figura 3-11, a percentagem de porosidade aumenta com a quantidade de sal utilizada. A macroporosidade presente nas microestruturas é proveniente da lixiviação do sal, enquanto que a microporosidade está relacionada com o empacotamento e sinterização do vidro.

Assumindo-se a sinterização como ocorrendo por mecanismos viscosos, o material vítreo escorre em redor das partículas de sal, tomando o formato de suas faces. Como as partículas de sal são poliédricas, Figura 3-2, os poros resultantes da lixiviação do sal apresentam, no final do

processamento, uma morfologia equivalente à das partículas de sal dissolvido, com tamanhos que atingem as centenas de micron.



**Figura 3-12:** Micrografias obtidas por SEM dos suportes com diferentes percentagens de sal. A) 10 % sal, B) 30 % sal, C) 40 % sal, D) 50 % sal, E) 60 % sal e F) 70 % sal.

Com base nestes resultados, seleccionou-se misturas com 50 % de sal para posterior investigação dos fenómenos físico-químicos que ocorrem durante a sinterização, das variáveis de processamento dos suportes e das suas características mais relevantes para a função de implante

bioactivo. A selecção desta quantidade de sal resulta das características de porosidade obtidas para os suportes com essas proporções, tabela 3-2 e figura 3-11: porosidade elevada, ~ 64 % numa gama de tamanhos aparentemente adequada à sua utilização, (presença de poros com tamanhos superiores a 100  $\mu\text{m}$ ) e predominantemente interconectados, ~ 56 %.

Para teores inferiores de sal a porosidade total e a interconectividade são mais reduzidas e para teores superiores preconiza-se uma degradação rápida da resistência.

## ***2.2. Misturas com 50 % de sal: Estudo das reacções e da cinética de sinterização***

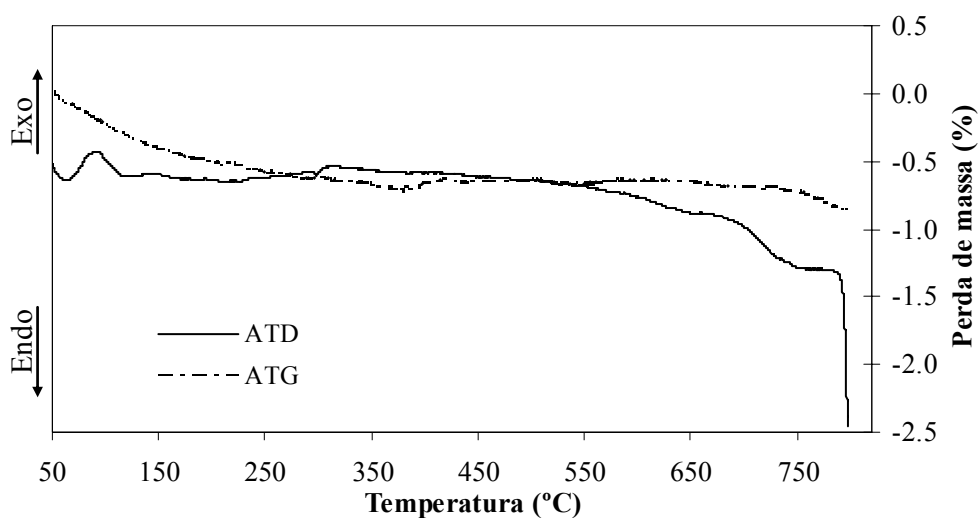
Nesta secção investigaram-se as reacções físico-químicas que ocorrem durante o processamento térmico da mistura vidro e sal na proporção 1:1 e a cinética do processo de sinterização.

### ***2.2.1. Reacção entre o sal e o vidro***

A figura 3-13 apresenta as curvas de ATD/ATG para a mistura de NaCl/vidro na proporção de 1:1 obtidas a uma taxa de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ . A curva de ATD apresenta uma deflexão endotérmica que se inicia ~ 700  $^{\circ}\text{C}$  e que se acentua a ~ 770  $^{\circ}\text{C}$ . Estes acidentes endotérmicos relacionam-se com o início da transição vítrea, fig.3-7 e a fusão do sal fig. 3-3, respectivamente. A ATG da mistura indica que até à temperatura de 800  $^{\circ}\text{C}$ , se perde menos de 1% da massa inicial.

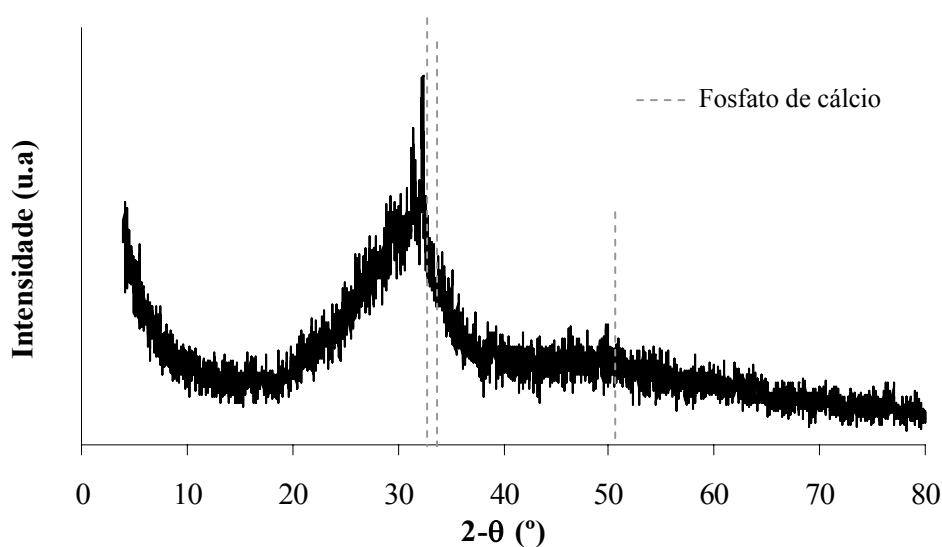
Não é detectável na curva de ATD qualquer pico na gama das temperaturas em que se observa um fenómeno de expansão, ~ 450  $^{\circ}\text{C}$  e a ~ 700  $^{\circ}\text{C}$ , na respectiva curva dilatométrica, figura 3-10, indicativo da formação de um produto da reacção.





**Figura 3-13:** Curvas de análise termogravimétrica e térmica diferencial do compacto vidro/sal.

O espectro de DRX da mistura vidro/sal aquecida a 800 °C mostra na figura 3-14, a formação incipiente de fosfato de cálcio, o que não era observável no difractograma correspondente do vidro, figura 3-9, à mesma temperatura, que apresentava um difractograma correspondente a uma estrutura eminentemente amorfa. Pese embora o facto da fase cristalina de fosfato de cálcio ser formada a partir da estrutura vítrea, o cloreto de sódio poderá por reacção com a superfície do vidro fomentar a existência de núcleos de cristalização na superfície.



**Figura 3-14:** Difractograma do compacto sinterizado à temperatura de 800 °C.

Prepararam-se suportes a partir da mistura de 50 % vidro: 50 % de sal que foram sinterizados às temperaturas de início do fenómeno anómalo de expansão, figura 3-10 que foram analisados por FTIR. Analisam-se também para efeitos de comparação um pó de vidro sem tratamento térmico e os respectivos aspectos são apresentados na figura 3-15.

Através da análise dos espectros procurou-se identificar as vibrações envolvidas, tal como, atribuir os grupos químicos relacionados a estas transições. As principais bandas apresentadas no espectro foram organizadas na tabela 3-3. Analisando os espectros de IV verifica-se que as bandas de absorvância dos espectros são mais largas à medida que o carácter amorfo do material é mais significativo, o que sucede para o vidro não tratado termicamente. A banda larga observada a  $\sim 3435\text{ cm}^{-1}$  e a  $3442\text{ cm}^{-1}$  é referente ao estiramento simétrico da ligação O-H devida à adsorção de água superficial dos pós. Observa-se também a presença da banda em  $1630\text{ cm}^{-1}$  correspondente à vibração da ligação O-H da água molecular. <sup>[119]</sup>

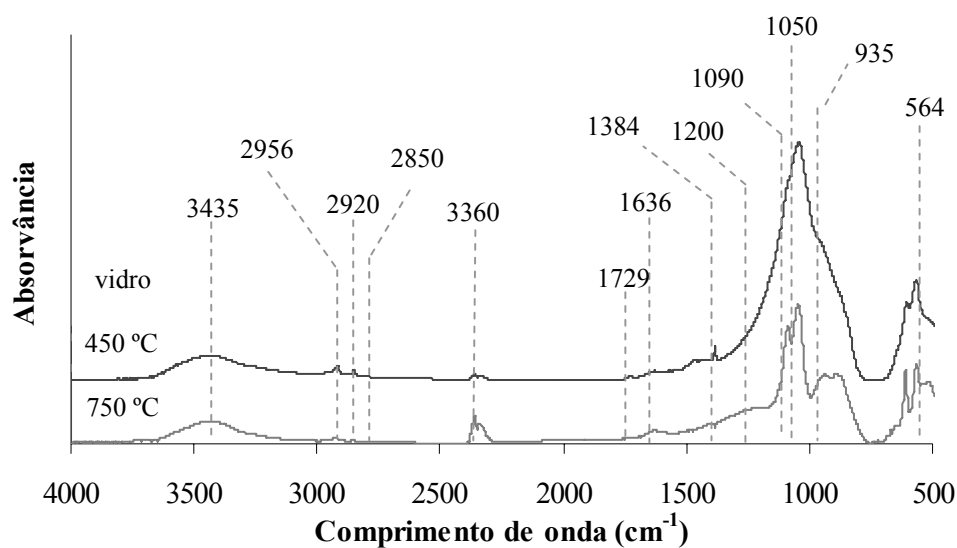
A banda em  $2360\text{ cm}^{-1}$  referente ao  $\text{CO}_2$  pode ser atribuída à presença de  $\text{CO}_2$  atmosférico no interior do aparelho. As bandas localizadas entre  $1300\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$  são consistentes com a presença de carbonatos de cálcio, resultantes da reacção de  $\text{CO}_2$  da atmosfera com o cálcio presente na superfície do vidro. <sup>[120]</sup>

Uma vez que acima dos  $1100\text{ cm}^{-1}$  não existem grupos de Si-O significa que a maioria dos grupos  $\text{SiO}_4$  detectados, possuem pelo menos uma ligação de oxigénio não ligante. <sup>[121]</sup>

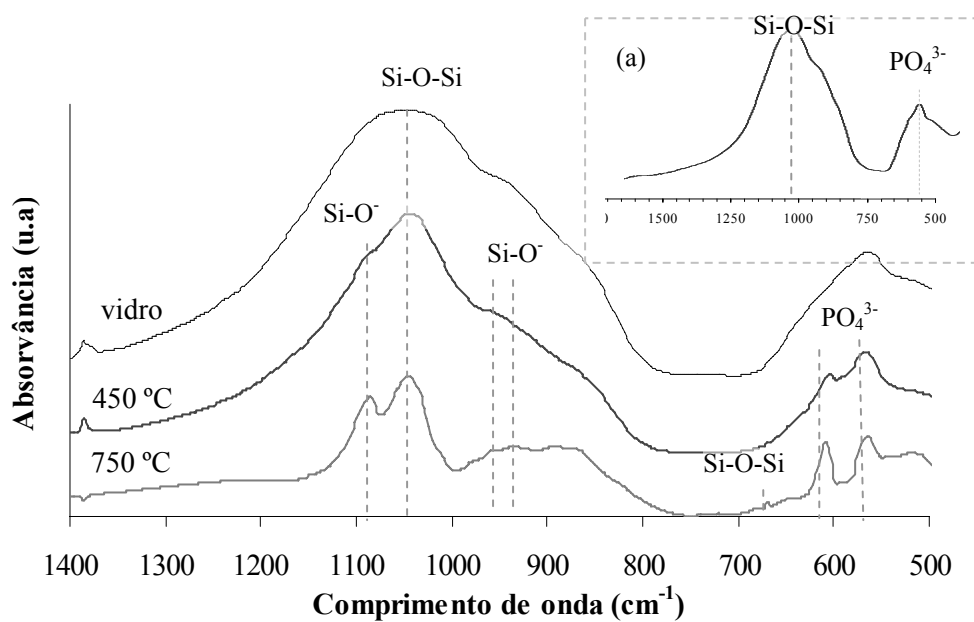
As bandas reveladas a  $935\text{ cm}^{-1}$ ,  $1090\text{ cm}^{-1}$  e  $1200\text{ cm}^{-1}$  com o tratamento térmico a  $750\text{ }^\circ\text{C}$ , figura 3-18, são atribuídas a vibrações das ligações Si-O<sup>-</sup>, oxigénios não ligantes, formadas devido à presença de iões alcalinos e/ou alcalinos terrosos na rede vítrea. <sup>[120]</sup>

De modo a avaliar o efeito do sal, apresenta-se na figura 3-18 (a), o espectro de FTIR do vidro sem a adição de sal tratado a  $750\text{ }^\circ\text{C}$ . É possível verificar que no vidro as bandas atribuídas às ligações Si-O<sup>-</sup> ( $935\text{ cm}^{-1}$ ,  $1090\text{ cm}^{-1}$  e  $1200\text{ cm}^{-1}$ ), não estão presentes, sendo apenas observável o pico a  $1050\text{ cm}^{-1}$  atribuído a ligação assimétrica Si-O-Si e um pico a  $\sim 600$  atribuído à ligação  $\text{PO}_4^{3-}$ .

A  $620\text{ cm}^{-1}$  surge também a banda de vibrações de flexão P-O atribuída à formação de fosfato de cálcio amorfo. Verifica-se o início da formação de uma nova banda a  $564\text{ cm}^{-1}$  correspondente ao início de cristalização desta fase. <sup>[122]</sup>



**Figura 3-15:** Espectro de FTIR do vidro sem tratamento térmico e das estruturas porosas sinterizados a 450 °C e a 750 °C.

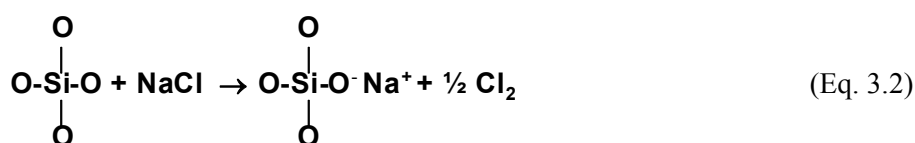


**Figura 3-16:** Ampliação do espectro de FTIR na gama dos 500-1400  $\text{cm}^{-1}$  do vidro e das estruturas porosas sinterizados a 450 e a 750 °C, (a) espectro de FTIR, (obtido noutro equipamento) na gama dos 500-1600  $\text{cm}^{-1}$  do vidro sinterizado a 750 °C.

**Tabela 3-3:** Frequências de vibração activa em infravermelho. <sup>[119-123]</sup>

<b>Bandas (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Interpretação</b>
3500-3435	OH (v <sub>1</sub> )
2360	Estiramento OH
1730-1725	Estiramento C=O
1630-1640	H <sub>2</sub> O
1100-1085	Estiramento assimétrico Si-O-Si
1060-1045	Estiramento simétrico Si-O-Si
960	Vibração estiramento Si-O ou Si-OH
935	Si-O <sup>-</sup>
640-680	Modo de flexão das ligações Si-O-Si e O-Si-O
620-600, 592-590, 581-580, 574-573, 568	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>

Estes resultados sugerem que ocorrem reacções físico-químicas durante o processamento térmico das misturas, nas regiões de contacto entre as partículas de sal e as de vidro e que não produzem variação térmica detectável por ATD, nem produtos de reacção cristalinos identificáveis nos espectros de DRX. A formação de oxigénios não ligantes detectada por FTIR a 450 °C e mais intensa ainda a 750 °C e a cristalização mais precoce do vidro nos espectros de DRX, juntamente com o efeito de expansão nas curvas dilatométricas, são fortemente indicativos da desestruturação da estrutura vítrea na superfície do vidro em contacto com o sal, e que poderá ser traduzida pela equação 3.2.:



A formação de cloro gasoso durante a reacção, proposta na Eq. 3.2, pode provocar o fenómeno de expansão observável nas curvas dilatométricas.

### 2.2.2. Cinética de sinterização do vidro e da mistura

O estudo cinético da sinterização foi efectuado por dilatometria em compactos, na proporção de 1:1, aquecidos com taxas constantes, desde a temperatura ambiente até cerca de 800 °C.

Neste estudo a temperatura é aumentada a uma taxa constante  $dT/dt=c$  e a retracção e a velocidade de retracção são determinadas em função da temperatura. O estudo cinético da sinterização do vidro que se apresentaram primeiramente foi feito para facilitar a análise, por comparação, do efeito das inclusões de sal na cinética de sinterização da mistura.

#### **2.2.2.1. Sinterização do vidro**

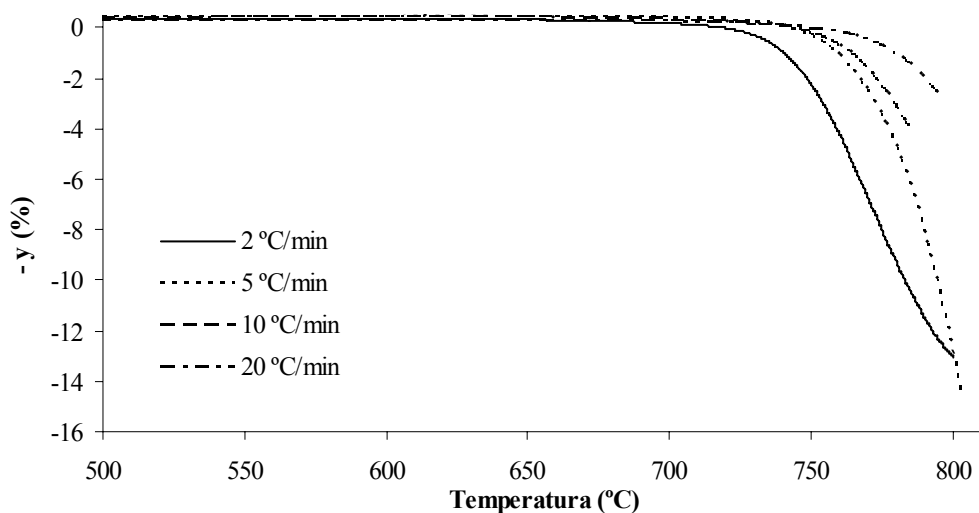
Na figura 3-18, são apresentadas as curvas de retracção linear de compactos de pós de vidro, aquecidos a diferentes taxas de aquecimento desde a temperatura ambiente até  $\sim 800$  °C. A escolha da temperatura máxima de sinterização no dilatómetro é consequência da temperatura de amolecimento do vidro. Não se realizaram ensaios a temperaturas superiores a 805 °C de modo a evitar que os compactos colassem à haste do dilatómetro.

Verifica-se, de um modo geral, que quanto menor a velocidade de aquecimento, maior o grau de retracção atingido, à mesma temperatura. A retracção linear máxima obtida foi de 15 %, para a taxa de aquecimento de 5 °C min<sup>-1</sup>.

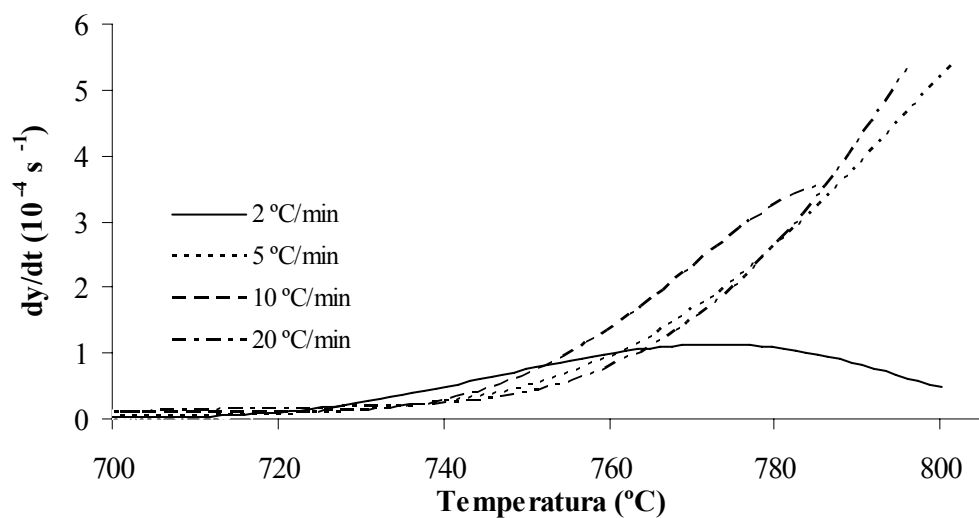
De acordo com os resultados apresentados na figura 3-17, os compactos começam a retrair aproximadamente a 690 °C, temperatura coincidente com a temperatura de transição do vidro e, retraem continuamente até  $\sim 800$  °C.

A retracção ocorre maioritariamente até 800 °C, temperatura a que deve ter início a cristalização do vidro, ocorrendo a densificação da amostra por escoamento viscoso. Acima deste valor, muito próximo da temperatura de cristalização, dois processos ocorrem em simultâneo competindo entre si, nomeadamente o escoamento viscoso e a nucleação e crescimento da fase cristalina.

Para a taxa de aquecimento de 2 °C min<sup>-1</sup> verifica-se a redução da velocidade de retracção o que revela a dificuldade do escoamento viscoso e consequentemente da densificação provavelmente devido ao início da cristalização.



**Figura 3-17:** Curva de expansão linear para compactos de pó de vidro aquecidos às taxas de aquecimento de 2, 5, 10 e 20 °C min<sup>-1</sup>.



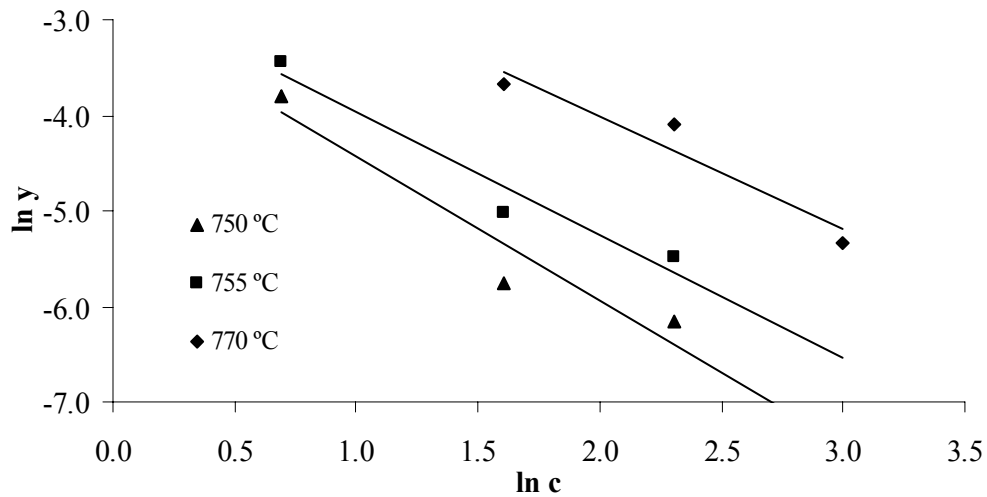
**Figura 3-18:** Taxa de retracção em função da temperatura, para as taxas de aquecimento de 2, 5, 10 e 20 °C min<sup>-1</sup>.

Através da utilização dos valores de retracção linear obtidos por análise dilatométrica é possível determinar a energia de activação aparente e o expoente cinético, característicos do mecanismo de densificação do material em estudo. Dentro das equações existentes para os estudos da cinética de sinterização <sup>[106,108]</sup>, considerou-se a equação 3.3 proposta por Venkatu <sup>[107]</sup>, essencialmente válida para o estágio inicial da sinterização,  $y \leq 2$  %:

$$y^p = \frac{B}{c} \exp\left[\frac{-(Q+Q')}{RT}\right] \quad (\text{Eq. 3.3})$$

onde  $Q'$  é uma constante que possui o valor de  $12\,171 \text{ kJ mol}^{-1}$ , para o fluxo viscoso,  $B$  é uma constante que depende somente do material e do mecanismo de sinterização e  $p$  é o expoente de sinterização, o qual apresenta os valores de  $p=1$  para fluxo viscoso,  $p=2$  para difusão por volume e  $p=3$  para o mecanismo de difusão por contorno de grão.

A determinação de  $p$  é efectuada através de um gráfico de  $\ln y$  em função de  $\ln c$ , para valores constantes de temperatura, donde se obtém um coeficiente angular de  $-1/p$ . Os valores do expoente, determinados para três temperaturas, através do gráfico da figura 3-19, são representados na tabela 3-4. Esta representação está limitada a três pontos, correspondentes às velocidades de aquecimento de  $2, 5$  e  $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$  ou  $20, 5$  e  $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ . Não é possível conjugar uma gama de temperaturas com valores de retracção,  $y \leq 2 \text{ } \%$  para as quatro velocidades de aquecimento. Obteve-se o valor de  $p = 0.7$ , ou seja, aproximadamente  $p \approx 1$ , que corresponde ao fluxo viscoso.

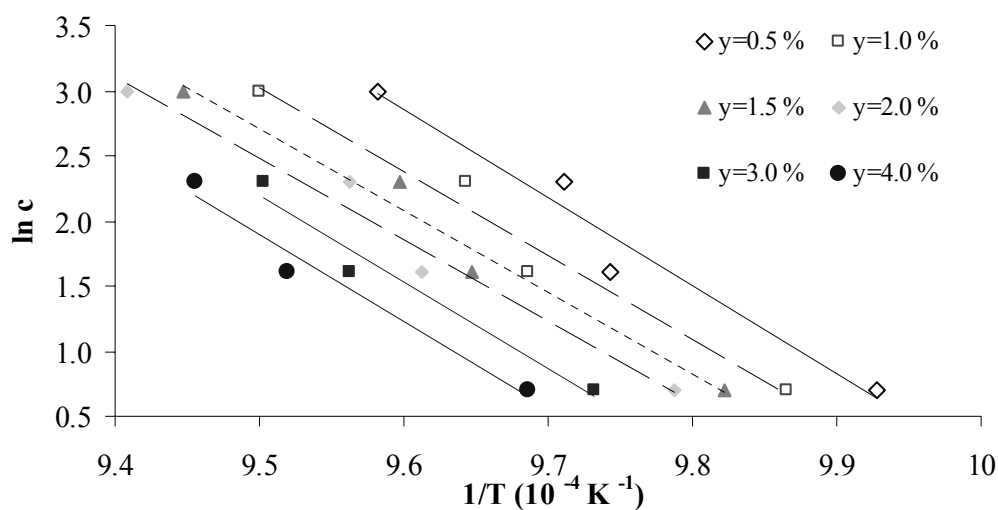


**Figura 3-19:** Gráfico de  $\ln y$  versus  $\ln c$  a temperatura constante.

**Tabela 3-4:** Expoente cinético de sinterização do vidro.

Temperatura (°C)	<i>p</i>
748	0.6
750	0.7
755	0.7
	<b>0.7</b>

A energia de activação aparente foi determinada a partir do coeficiente angular médio das rectas representadas na figura 3-20, sob valores constantes de retracção linear de 0.5 a 4 %, considerando a equação 3.3 válida ainda nesse intervalo. Os valores calculados estão representados na tabela 3-5 e apresentam uma dispersão reduzida no intervalo considerado. A energia de activação média obtida, tabela 3-5, foi de  $516 \pm 23 \text{ kJ mol}^{-1}$ , sendo este valor comparável aos valores encontrado para a energia de escoamento viscoso de vidros em sistemas de  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ <sup>[113]</sup> e de  $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-Al}_2\text{O}_3$ <sup>[114]</sup>, de respectivamente 536 e 621  $\text{kJ mol}^{-1}$ , na tabela 1-2.

**Figura 3-20:** Representação de Arrhenius da velocidade de aquecimento para valores de retracção constantes.

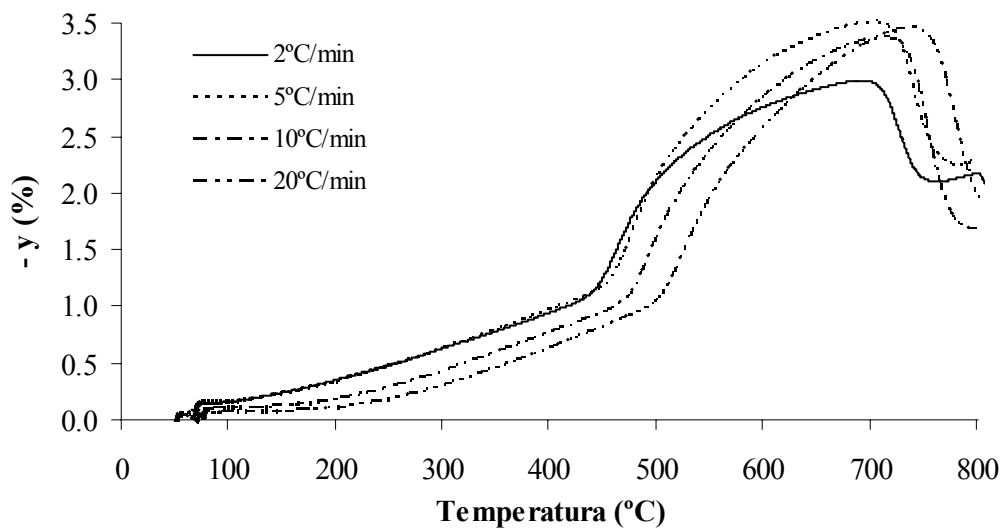


**Tabela 3-5:** Energia de activação da sinterização do vidro.

y	Q (KJ mol <sup>-1</sup> )
0.5	536
1.0	511
1.5	499
2.0	491
3.0	530
4.0	531
<b>516±23</b>	

#### 2.2.2.2. Sinterização do vidro/sal

A figura 3-21 apresenta a curva dilatométrica das amostras com 50% de sal quando submetidas a diferentes velocidades de aquecimento desde a temperatura ambiente até à temperatura de 800 °C.



**Figura 3-21:** Análise dilatométrica dos compactos de vidro com sal na proporção de 1:1 para as taxas de aquecimento de 2, 5, 10 e 20 °C min<sup>-1</sup>.

A figura 3-22 apresenta os resultados da retracção linear das amostras considerando o ponto zero da retracção no ponto máximo da curva de expansão linear.

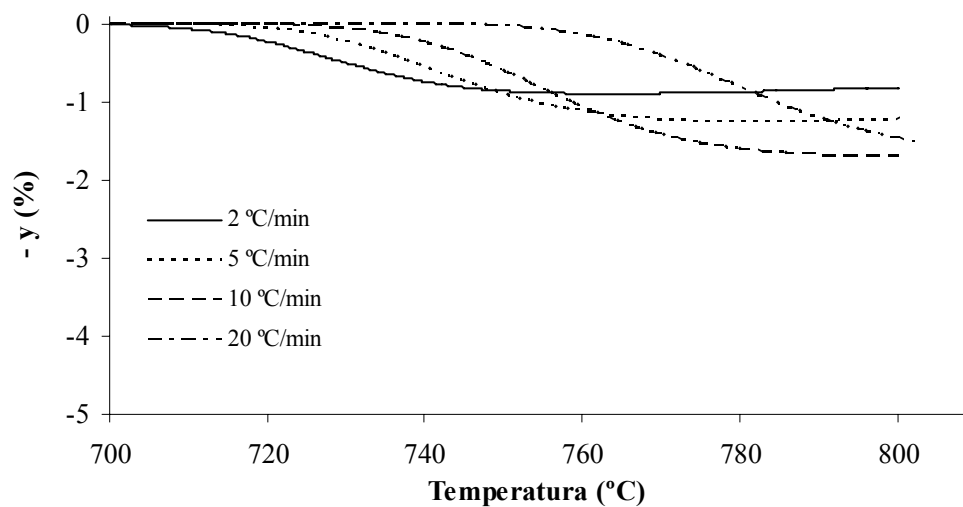
A retracção total é muito reduzida,  $0.9 \leq y \leq 1.7$  % e como pode ser observado na figura 3-21, é aproximadamente equivalente à expansão observada na curva com 50 % de sal, donde resulta uma densificação aproximadamente nula dos compactos. De um modo geral, pode observar-se que quanto maior a taxa de aquecimento, ligeiramente maior é a percentagem de retracção atingida, contudo, para cada velocidade de aquecimento existe um valor de temperatura a partir do qual a retracção cessa, sendo esse valor de temperatura tanto mais baixo quanto menor a velocidade de aquecimento.

A figura 3-22 mostra que a taxa de retracção linear,  $dy/dt$ , e a temperatura do máximo da curva  $dy/dt$ , versus temperatura aumentam com a velocidade de aquecimento, como normalmente observado na literatura<sup>[108]</sup>.

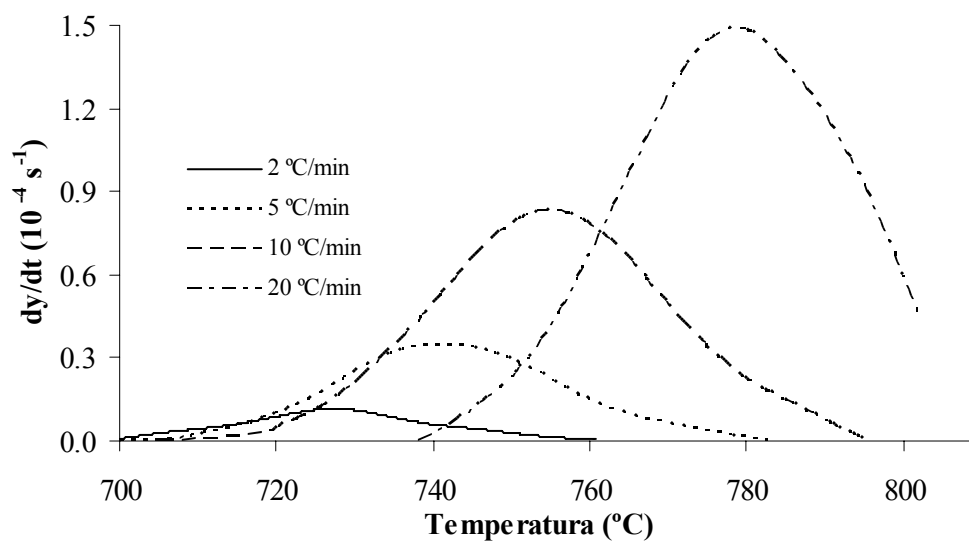
A densificação da mistura sal/vidro deve ocorrer devido ao escoamento viscoso entre as partículas de vidro. Entre as partículas de sal pode ocorrer transporte por evaporação-condensação a temperaturas de 700-800 °C como reportado na bibliografia, para compactos de sal com granulometria superior a 180  $\mu\text{m}$ <sup>[90,124]</sup> sem densificação do compacto, como é também observado na figura 3-4.

Observa-se na figura 3-24 as taxas de densificação do compacto com e sem sal. A retracção tem início a  $\sim 700$  °C, temperatura que é próxima da temperatura de transição do vidro, figura 3-7. A sinterização do vidro prossegue com o aumento da temperatura apresentando uma taxa de retracção linear,  $dy/dt$ , e uma temperatura do máximo da curva  $dy/dt$ , superiores.

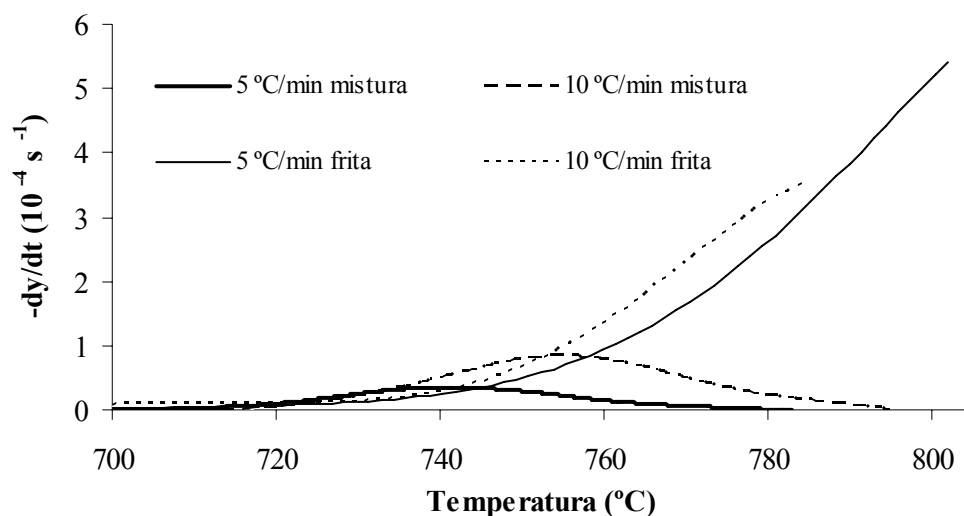
O valor extremamente limitado de retracção do compacto indicia uma distribuição bastante uniforme do sal entre as partículas de vidro, reduzindo drasticamente a sua área de contacto e, logo, a retracção total do compacto. Para o efeito da redução da retracção total do compacto deve também contribuir a reacção entre o sal e o vidro, com expansão, devido à eventual formação de produtos gasosos e provável início da cristalização.



**Figura 3-22:** Efeito da velocidade de aquecimento na retracção linear dos compactos.

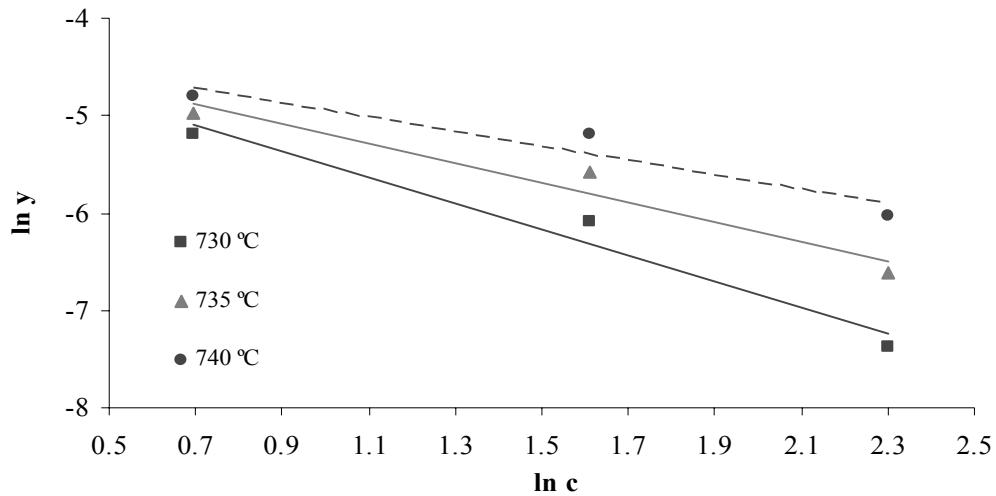


**Figura 3-23:** Taxa de retracção em função da temperatura, para as taxas de aquecimento de 2, 5, 10 e 20 °C min<sup>-1</sup>.



**Figura 3-24:** Taxa de retração do compacto de vidro e do compacto de vidro/sal em função da temperatura, para as taxas de aquecimento de 5 e 10 °C min<sup>-1</sup>.

O valor do expoente de sinterização para três temperaturas, obtido através do gráfico da figura 3-25, está representado na tabela 3-6. Verifica-se que o expoente cinético aumenta significativamente com o aumento da temperatura. Estes resultados não podem ser interpretados como sendo devidos apenas ao fenómeno de fluxo viscoso do vidro, devendo ser considerada a interferência das reacções químicas, que ocorrem na interface vidro-sal, que alteram a composição do vidro e provavelmente a sua viscosidade e desenvolvem produtos de decomposição gasosa criando uma pressão interna no compacto. Ainda assim, um valor médio de  $p=1.1$  é indicativo que a sinterização da mistura ocorre essencialmente por fluxo viscoso.

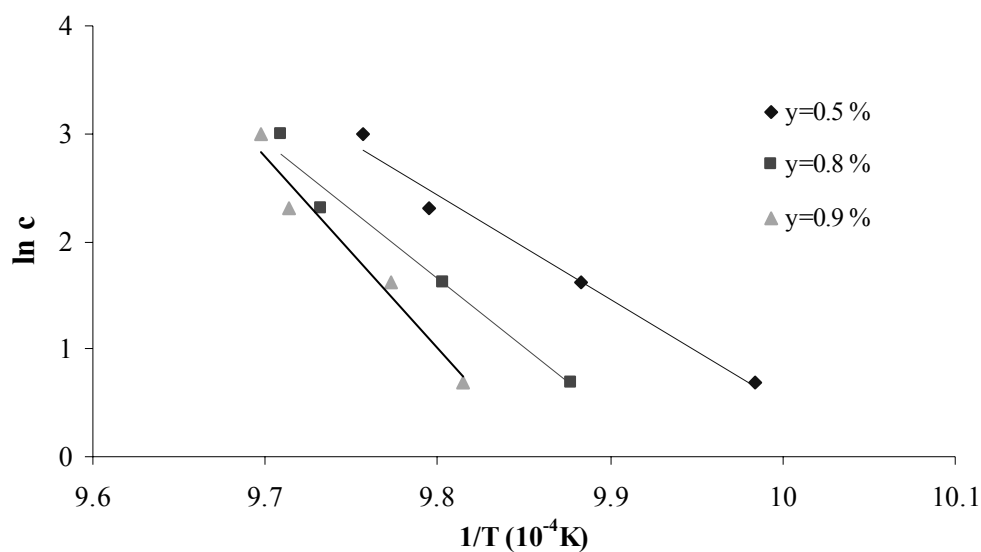


**Figura 3-25:** Gráfico de  $\ln y$  versus  $\ln c$ , para as temperaturas de 725, 730, 735 e 740 °C. [c em °C]

**Tabela 3-6:** Expoente cinético da sinterização da mistura vidro e sal (1:1).

Temperatura (°C)	$p$
730	0.8
735	1.0
740	1.4
<b>Média</b>	<b>1.1</b>

A energia de activação aparente para o estágio inicial, figura 3-26, foi determinada a partir do coeficiente angular médio das rectas obtidas, sob valores constantes de retracção linear de 0.5, 0.8 e 0.9 %. A energia de activação aparente aumentou significativamente na presença do sal em comparação com os valores obtidos para o vidro. A presença destas inclusões rígidas e a reacção entre o vidro e o sal dificultam a ocorrência de fluxo viscoso do vidro. Tal como o expoente cinético da mistura, também a energia cinética de activação apresenta valores bastante variáveis aumentando significativamente com o aumento da temperatura. Estes resultados, tal como referido anteriormente, podem ocorrer devido à reacção entre o sal e a superfície do vidro e que interfere na densificação da mistura.



**Figura 3-26:** Representação de Arrhenius da velocidade de aquecimento a valores de retração constantes.

**Tabela 3-7:** Energia de activação da sinterização dos compactos.

$y$	$Q (KJ mol^{-1})$
0.5	774
0.8	1040
0.9	1456

### 2.3. Selecção de variáveis de processamento

Com o objectivo de determinar as melhores condições experimentais para obter suportes porosos de vidro com porosidade aberta elevada e resistência mecânica suficiente, realizou-se o estudo da influência da pressão de compactação e do tempo de sinterização a temperatura constante, que complementa o estudo anterior da sinterização em condições não isotérmicas e permite seleccionar as condições de processamento a nível da conformação e do ciclo térmico subsequente.

#### 2.3.1. Pressão de compactação

Para o estudo do efeito da pressão de compactação na sinterização de compósitos de vidro com 50 % de sal, utilizaram-se misturas de pós, prensadas uniaxialmente a 10, 21 e 43 MPa. A

tabela 3-8 apresenta o efeito que a pressão de compactação tem na variação da densidade dos compactos em verde ( $\rho_v$ ), sinterizados ( $\rho_s$ ) e após lixiviação ( $\rho_l$ ). Verificou-se, em todos os compactos, que o aumento da pressão de prensagem promoveu o aumento da densidade em verde sem o aparecimento de defeitos macroscópicos. A densidade após sinterização não apresenta o mesmo incremento sendo, dentro do erro experimental ( $\pm 2\%$ ), aproximadamente equivalente nas 3 amostras. O melhor empacotamento em verde dos compactos sujeitos a maior pressão de compactação deve corresponder a uma melhor distribuição do NaCl entre as partículas de vidro, dificultando por isso a sua ligação na sinterização e densificação da matriz vítrea.

Após lixiviação, verificou-se que o aumento da pressão de prensagem não afectou a densidade, de forma significativa. No entanto, a absorção de água aumentou de 51 % para 62 % para um aumento de 10 para 21 MPa de pressão de compactação e diminuiu ligeiramente para pressões superiores. Este facto deve estar relacionado com a densificação da matriz vítrea, mais facilitada para prensados menos compactados, a 10 MPa, e levando à formação de  $\sim 12\%$  de poros fechados. Tendo em conta a obtenção de uma porosidade aberta elevada nos suportes, após lixiviação, seleccionou-se a pressão de 21 MPa correspondente a um valor de absorção de água mais elevado, para a sua conformação.

**Tabela 3-8:** Efeito da pressão de compactação nas características dos compactos.

Pressão (MPa)	Verde		Sinterizadas			Lixiviadas		A.A. (%)
	$\rho_v$ (g/cm <sup>3</sup> )	$d_v$ (%)	$\rho_s$ (g/cm <sup>3</sup> )	$d_s$	% P	$\rho_l$ (g/cm <sup>3</sup> )	% P	
10	1.79	75	1.72	72	28	0.96	63	51
21	1.84	77	1.71	72	28	0.94	64	62
43	1.92	81	1.79	75	25	0.85	61	58

$\rho$  – densidade,  $d$  – densidade relativa, P – porosidade, A.A – absorção de água. Os índices v, s e l referem-se a verde, sinterizado e após lixiviação respectivamente.

### 2.3.2. Temperatura e tempo de sinterização

Neste trabalho pretendem obter-se suportes amorfos, com alguma densificação e uma resistência mecânica comparável à do osso trabecular mas, mantendo uma elevada área superficial específica e porosidade maioritariamente interconectada. Tendo em conta estas características e o estudo cinético anterior, figuras 3-22 e 3-23, optou-se por seleccionar as taxas de aquecimento de 5

e  $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , como as mais indicadas para o estudo do efeito do tempo de patamar para a sinterização, visto que a uma taxa de aquecimento mais baixa,  $2\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , a velocidade de retracção é muito reduzida e à taxa de  $20\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$  o máximo de velocidade de retracção ocorre a uma temperatura,  $T \approx 780\text{ }^{\circ}\text{C}$ , em que pode ocorrer desvitrificação (ver figura 3-23). Dado existirem já alguns suportes, com diferentes percentagens de sal, sinterizados com uma taxa de aquecimento de  $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , usou-se essa taxa de aquecimento nos estudos posteriores e limitou-se a temperatura de sinterização a  $750\text{--}760\text{ }^{\circ}\text{C}$ , logo após o máximo da curva de retracção linear, figura 3-23, sendo essas temperaturas suficientemente afastadas das temperaturas em que se detecta desvitrificação ( $T \geq 800\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

Os resultados referentes à densidade relativa dos compactos sinterizados,  $d_s$ , com diferentes tempos de patamar a  $750\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $760\text{ }^{\circ}\text{C}$  antes da etapa de lixiviação, são apresentados na tabela 3-9. A densificação dos compactos ocorre sobretudo durante o aquecimento e nos primeiros minutos de patamar. Após 10 minutos de patamar a densificação permanece constante. Este comportamento, com densificação rápida inicial, é característico do processo de densificação por fluxo viscoso da fase vítrea.

**Tabela 3-9:** Caracterização das amostras sinterizadas.

	<b>Tempo de patamar (min)</b>	<b><math>\rho_a</math> (g/cm<sup>3</sup>)</b>	<b><math>d_s</math> (%)</b>	<b>Porosidade (%)</b>
750 °C	0	1.65	70±0.5	30
	5	1.68	71±0.6	29
	10	1.69	72±0.3	28
	15	1.69	72±0.3	28
	60	1.72	73±0.1	28
760 °C	0	1.71	72±0.3	28
	5	1.72	73±0.8	27
	10	1.72	73±0.4	27
	15	1.71	73±0.2	27

Após lixiviação, tabela 3-10, verifica-se uma elevada redução dos valores de densidade aparente. A redução dos valores de densidade aparente, de  $\sim 44 \pm 1\%$ , relativamente aos valores anteriores à lixiviação, é indicativa da remoção eficiente do sal, uma vez que a percentagem mássica de sal adicionado à mistura representa cerca de  $45\%$  (p/p).



A porosidade, calculada a partir da densidade real do vidro,  $\rho_t = 2.6 \text{ g cm}^{-3}$ , apresenta valores de  $64 \pm 1 \%$ . Comparando estes valores com os obtidos na etapa anterior, verifica-se que mais de metade do volume de porosidade presente é proveniente da remoção do sal.

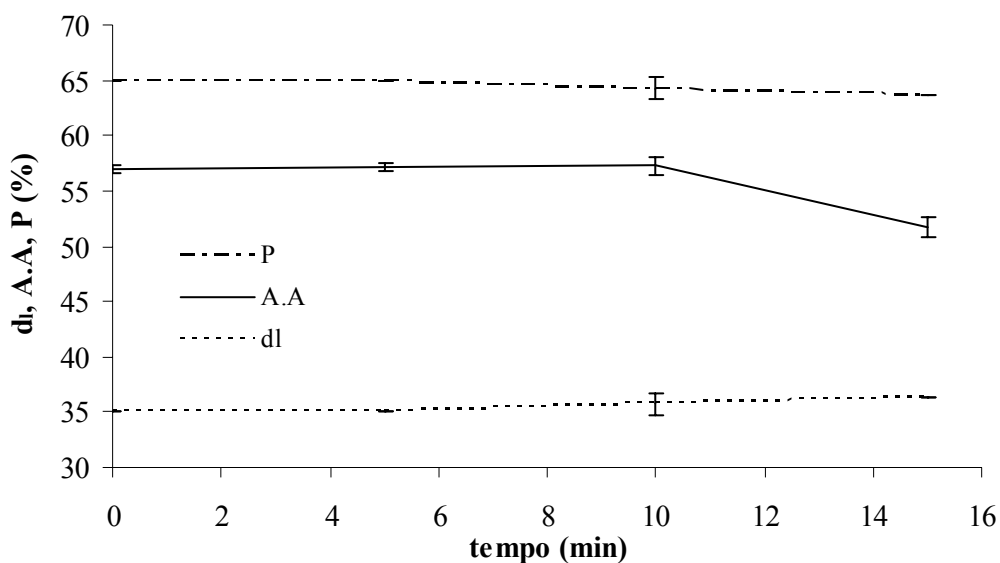
**Tabela 3-10:** Caracterização das amostras lixiviadas.

	<b>Tempo de patamar (min)</b>	<b><math>\rho_a \text{ (g/cm}^3\text{)}</math></b>	<b>Porosidade (%)</b>	<b>Absorção de água (%)</b>
750 °C	0	0.91	65	57
	5	0.91	65	57
	10	0.94	64	57
	15	0.95	64	52
	60	0.95	63	53
760 °C	0	0.92	65	54
	5	0.91	65	52
	10	0.93	64	52
	15	0.95	64	51

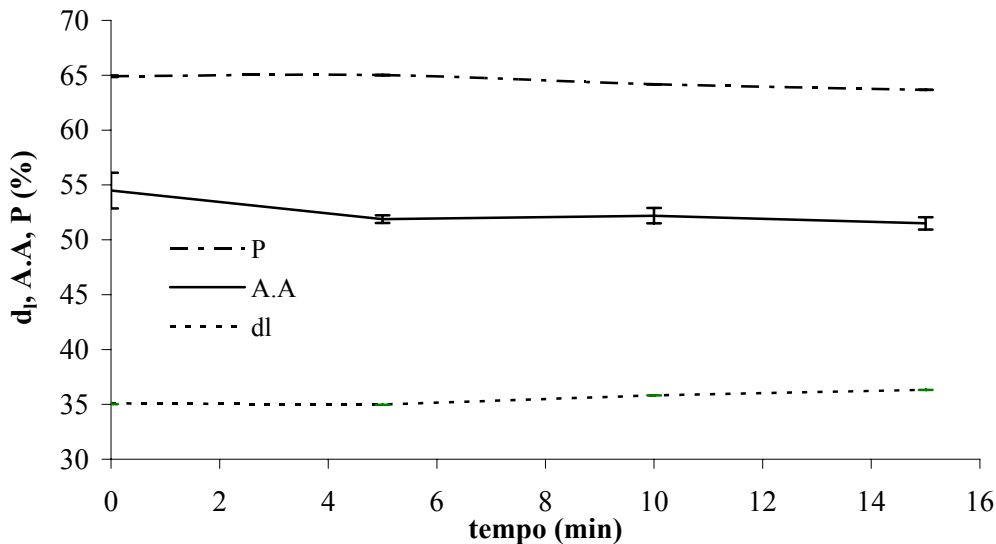
Os valores de absorção de água obtidos, figuras 3-27 e 3-28, indicam que a porosidade existente é, em grande parte acessível à penetração de água, o que significa que a porosidade é maioritariamente aberta. Para a temperatura de 750 °C verifica-se que com o aumento do tempo de patamar de sinterização decresce a percentagem de absorção de água, ou seja, da porosidade aberta. As amostras sinterizadas a 750 °C, com patamar de 10 minutos, apresentam os menores valores de porosidade fechada. Este tipo de porosidade é prejudicial uma vez que pode aprisionar partículas de sal no seu interior e não contribui para a reactividade superficial.

Para a temperatura de 760 °C, verifica-se que a absorção de água diminui para os 5 minutos de patamar, apresentando valores estáveis para tempos superiores.

Os resultados quer de densificação, quer de área superficial e de absorção de água apontam para que os suportes devam ser sinterizados a 750 °C sem patamar ou com um patamar muito curto ( $< 5 \text{ min.}$ ). Contudo, num forno de maior dimensão poderá ser aconselhável fazer um patamar um pouco superior, para garantir a uniformidade da temperatura no forno e logo nas amostra, optou-se, por isso, por sinterizar os compactos utilizados na caracterização mecânica e de reactividade superficial a 750 °C, com patamar de 10 minutos.



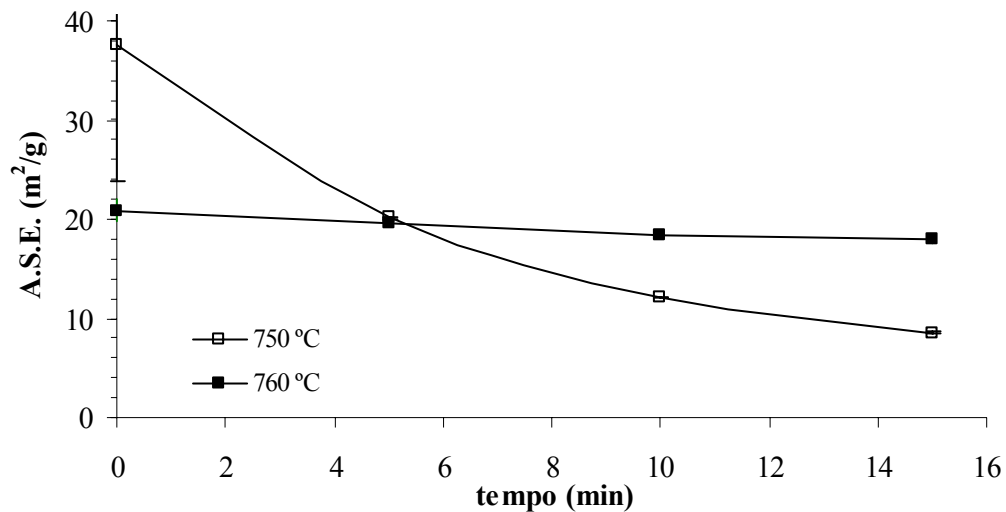
**Figura 3-27:** Variação da densidade relativa ( $d_l$ ), absorção de água (A.A.) e porosidade (P) com o tempo para compactos sinterizados a 750 °C, após lixiviação.



**Figura 3-28:** Variação da densidade relativa ( $d_l$ ), absorção de água (A.A.) e porosidade (P) com o tempo para compactos sinterizados a 760 °C, após lixiviação.

A figura 3-29 apresenta a variação de área superficial específica com o tempo de sinterização até 15 min. Verifica-se que o valor de área superficial diminui com o tempo de patamar para amostras sinterizadas a 750 °C tendendo à estabilização para tempos superiores a 10 minutos. A

760 °C os valores de área superficial são aproximadamente constantes. A redução da área superficial específica com o tempo de patamar é o resultado de alguma densificação, com redução da porosidade aberta e da diminuição da rugosidade das partículas (transporte superficial). É importante manter os elevados valores de área superficial específica pelo efeito correspondente de elevada reactividade superficial de suportes porosos.

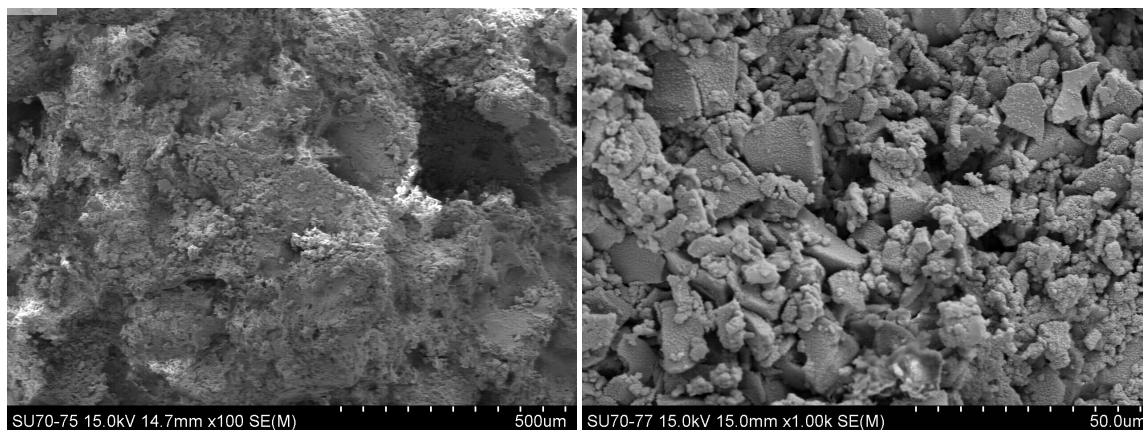


**Figura 3-29:** Variação da área superficial específica com o tempo de patamar para compactos sinterizados a diferentes temperaturas, após lixiviação.

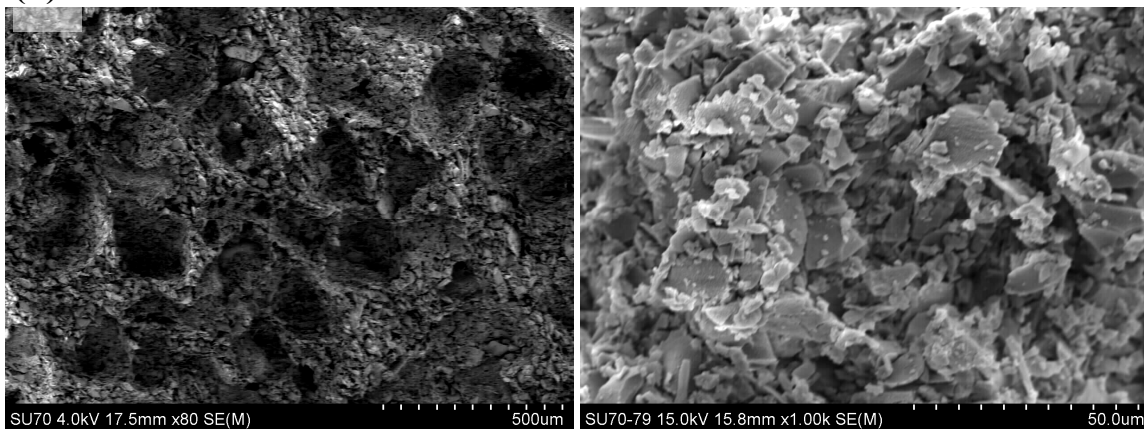
A microestrutura dos porosos sinterizados a 750 e 760 °C, com diferentes tempos de patamar está representada nas figuras 3-30 e 3-31. Observam-se os macroporos com diâmetros superiores a 100  $\mu\text{m}$  e microporos que apresentam diâmetros até à dezena de  $\mu\text{m}$ . Os microporos estão distribuídos nas paredes dos macroporos. A presença de microporosidade no interior dos macroporos aumenta a área superficial específica de contacto disponível para a interacção das células com o material. Estes microporos são formados entre as partículas de vidro e sofrem alguma retracção durante o processo de sinterização. Alguns destes transitam para fechados no decurso da sinterização.

Numa situação *in vivo* espera-se que os macroporos e a sua rede interligada providenciem um meio de acesso para o crescimento interno dos tecidos circunjacentes do hospedeiro, facilitando a futura deposição de osso nas cavidades. Uma característica importante observada nos compactos é a morfologia final dos poros. Adicionalmente, a forma complexa das paredes promove habitualmente uma estrutura que suporta a organização do tecido em crescimento, melhorando a fixação biológica. <sup>[128,129]</sup>

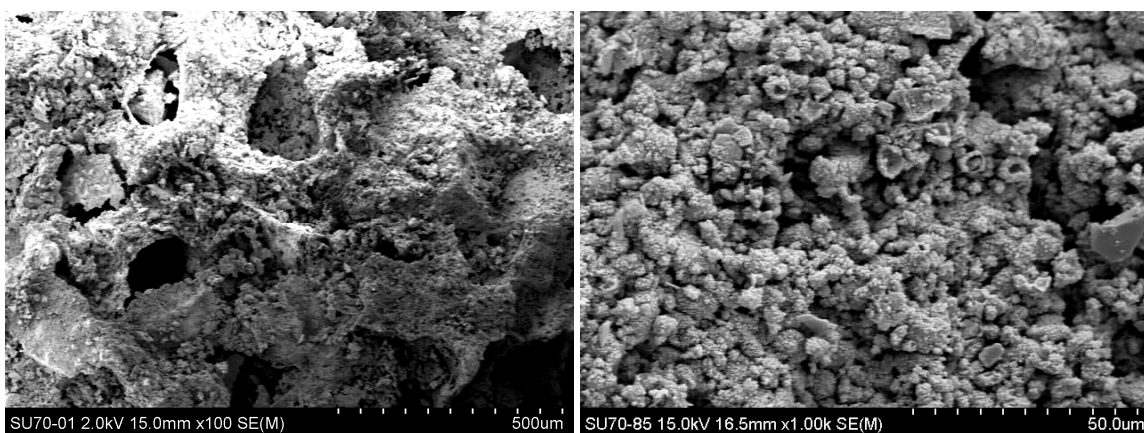
a)



b)



**Figura 3-30:** Imagem de SEM da estrutura porosa sinterizada a 750 °C com patamar de a) 0 min e b) 10 min.

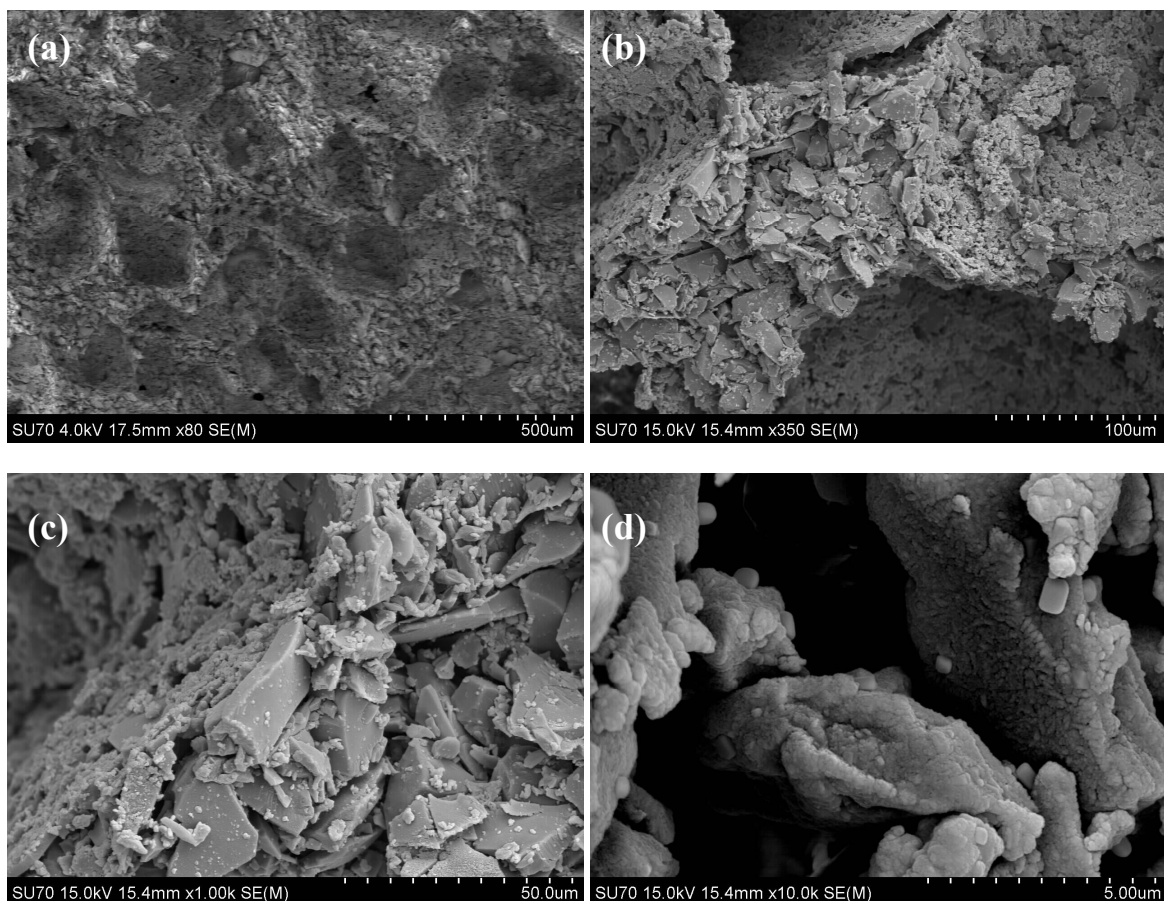


**Figura 3-31:** Imagem de SEM da estrutura porosa tratada a 760 °C com patamar de 0 min.

### 3. Caracterização microestrutural, mecânica e de reactividade superficial de suportes

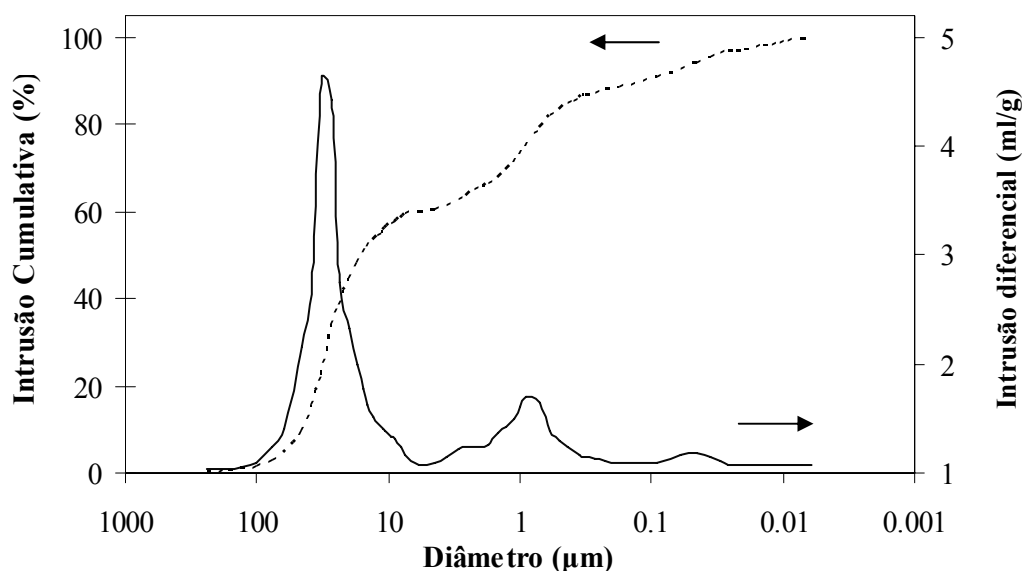
#### 3.1. Microestrutura e porosidade

Os suportes sinterizados a 750 °C com patamar de 10 min, e após lixiviação, apresentam, figura 3-32, uma microestrutura porosa, ( $64 \pm 1$  % de porosidade). Os macroporos de diâmetro superior a 100  $\mu\text{m}$  e interconectados podem ser observados na figura 3-32 a) e b), enquanto que os microporos de tamanho bastante mais reduzido são observáveis para ampliações superiores, figura 3-32 c) e d). A microporosidade existente, proveniente do processo de sinterização, contribui para uma maior área superficial o que em situações *in vivo* é benéfico para a adsorção de proteínas, trocas iónicas e formação da camada apatítica por dissolução e precipitação. <sup>[83]</sup>



**Figura 3-32 a, b, c, d:** Micrografia das estruturas porosa sinterizadas a 750 °C, durante 10 min com diferentes ampliações.

A figura 3-33 apresenta a distribuição dos poros interconectados determinada por porosimetria de mercúrio. Nos eixos verticais representam-se o diferencial do volume de mercúrio intrudido e a curva cumulativa da intrusão em função do diâmetro de poros. Os poros com tamanho inferiores a 10  $\mu\text{m}$  devem corresponder aos microporos resultantes do processo de sinterização. Estes microporos encontram-se nas paredes dos poros maiores e representam  $\sim 40\%$  do volume total dos poros abertos aumentando a interconectividade da estrutura porosa. Os poros maiores representam  $\sim 60\%$  do volume total de poros abertos e distribuem-se entre  $\sim 10\text{-}200\ \mu\text{m}$  com a maior frequência a 35  $\mu\text{m}$ . Este diâmetro de poro é bastante inferior ao das secções observadas em SEM, figura 3-32. A discrepância de valores entre os valores observados por microscopia e porosimetria é conhecida <sup>[127]</sup> e atribuída ao facto da técnica de porosimetria medir o tamanho das constricções dos poros, obtendo-se um valor subestimado de tamanho de poro.



**Figura 3-33:** Distribuição do tamanho de poro da estrutura sinterizada a 750 °C durante 10 min.

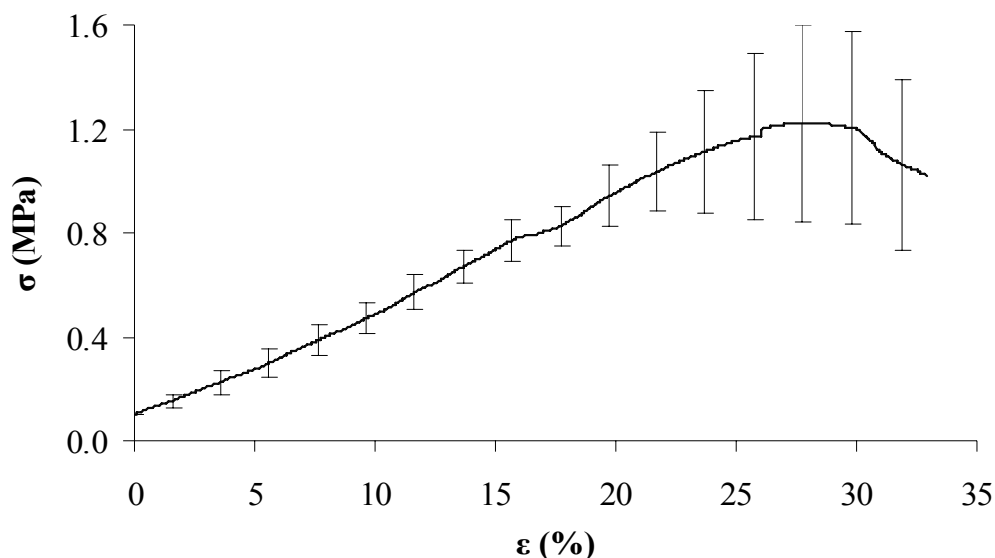
### 3.2. Resistência mecânica à compressão

A figura 3-34 apresenta uma curva de tensão extensão representativa do comportamento dos suportes porosos à compressão. Foram ensaiadas 10 amostras e representa-se na figura a dispersão dessas medidas.

Para aplicação na regeneração do tecido ósseo, as propriedades mecânicas da matriz são críticas e o módulo de elasticidade e a resistência mecânica do material devem ser similares aos do osso natural. Na tabela 3-11 são apresentadas as propriedades mecânicas, em compressão das

estruturas porosas aqui estudadas e do osso. O *módulo de elasticidade*, ou módulo linear  $E$ , é definido como a constante de proporcionalidade, dada pela lei de Hooke:

$$\sigma = E \varepsilon \quad (\text{Eq. 3.4})$$



**Figura 3-34:** Curva nominal de tensão extensão em ensaios de compressão de estruturas porosas com 50% sal.

De acordo com os resultados expressos na tabela 3-11, os materiais porosos produzidos neste trabalho apresentam um valor médio de tensão de cedência à fractura por compressão de  $1.2 \pm 0.4$  MPa, que se aproxima dos valores característicos do osso trabecular. Comparando com o valor obtido por Rüssel<sup>[78]</sup>, que utiliza a mesma técnica de processamento, obtendo para 50 % de sal cerca de 74 % de porosidade, verifica-se que os materiais produzidos neste trabalho apresentam um valor cerca de 4 vezes superior ao obtido por aqueles investigadores. O valor de módulo linear é contudo uma ordem de grandeza inferior ao do osso humano trabecular. Apesar de tudo é um valor aceitável em comparação com o valor obtido para outros suportes porosos.

**Tabela 3-11:** Propriedades mecânicas, em compressão, das estruturas porosas e do osso.

Material	$\sigma_{\text{comp}}$ (MPa)	E (GPa)
<i>Scaffolds</i> preparados	1.2±0.4	0.0049±0.0003
Osso trabecular <sup>[33]</sup>	2-12	0.05-0.5
50 %Na <sub>2</sub> O.CaO.B <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -sal <sup>[78]</sup>	0.29	-
HA porosa (82-86 %) <sup>[62]</sup>	0.21-0.41	0.0016- 0.83

### 3.3. Ensaios de mineralização *in vitro*

Um dos pré-requisitos para um material se ligar ao osso é a sua capacidade de formação de uma camada de apatite biologicamente activa na interface material/osso, usualmente conhecida como “*bone-like apatite*”, similar em composição e estrutura à fase inorgânica do tecido ósseo. É esta camada que parece actuar como sinalizadora de proteínas e células para iniciar a cascata de eventos que resulta na formação da estrutura óssea sobre a camada de apatite formada. Os osteoblastos proliferam preferencialmente e diferenciam-se produzindo apatite e colágeno. O recurso a ensaios de mineralização *in vitro* pode ajudar a prever o comportamento dos materiais em situações *in vivo*. Estes ensaios fornecem informações importantes sobre as modificações topográficas dos materiais e sobre as alterações da composição química dos fluidos fisiológicos de imersão. Os resultados obtidos permitem identificar a formação da camada apatítica, caso ocorra e avaliar a capacidade de bioactividade *in vitro* dos materiais.

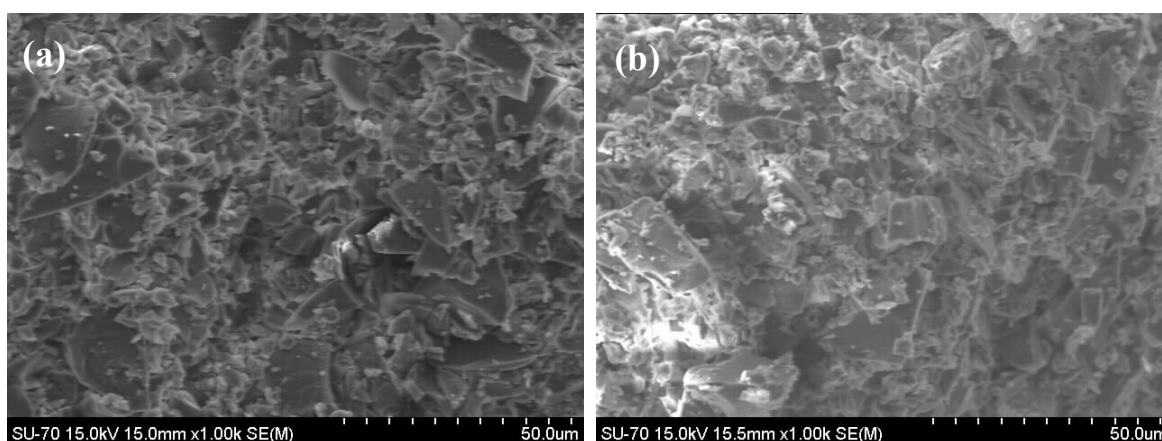
#### 3.3.1. Análise das modificações superficiais

Para o estudo da bioactividade foram seleccionadas as amostras sinterizadas a 750 °C com patamar de temperatura de 10 min, que são totalmente amorfas.

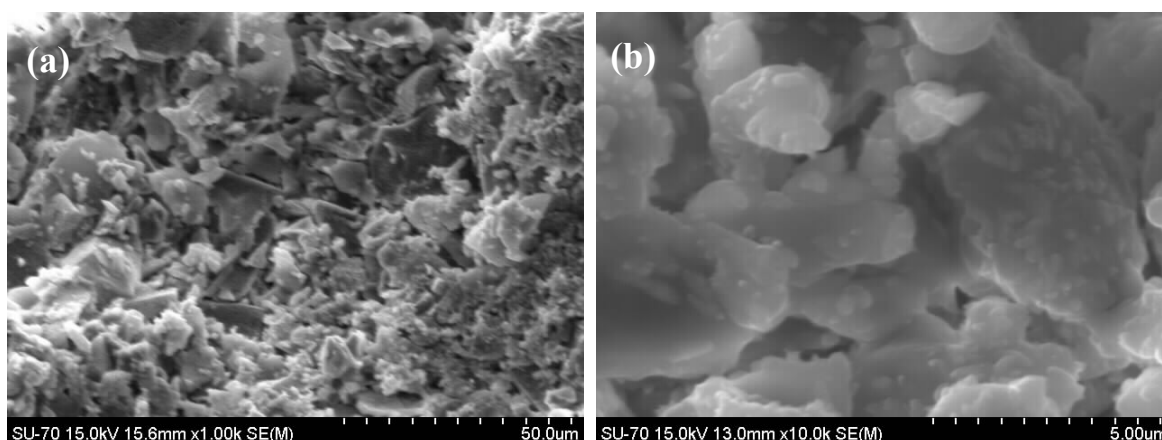
A análise da superfície de fractura das estruturas 3D por microscopia electrónica de varrimento, evidenciou uma camada superficial que, por EDS, se veio a confirmar ser rica em cálcio e fósforo.



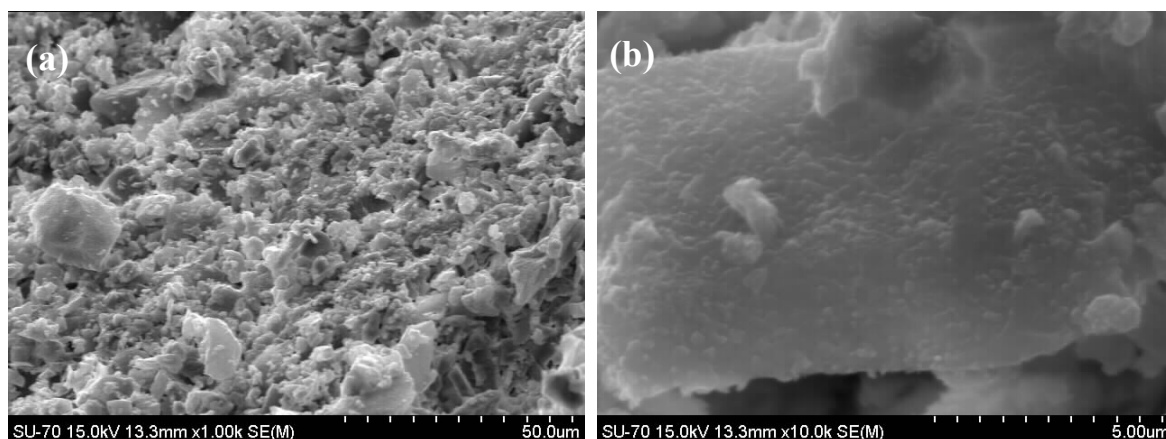
Na primeira hora de imersão na solução de SBF observa-se uma pequena alteração da superfície da amostra, consistente com a dissolução do vidro para a solução, figura 3-35. Após um dia de imersão, toda a superfície da amostra revela os efeitos da dissolução que está a ocorrer. Pequenos depósitos de fosfato de cálcio são já visíveis. Aumentando o tempo de imersão para 3 dias, figura 3-36, aumenta a quantidade de depósitos dispersos de fosfato de cálcio. Com 7 dias de imersão a amostra está coberta por uma camada de fosfato de cálcio. Ao fim de 14 dias de imersão, figura 3-37b, observa-se a formação de uma camada apatítica contínua nas paredes da estrutura porosa. A morfologia do precipitado em forma de nódulos esféricos é típica dos precipitados de fosfato de cálcio que usualmente se depositam sobre os materiais com bioatividade *in vitro*. A formação da camada apatítica não altera significativamente a porosidade da estrutura. São observados macroporos, com tamanhos idênticos aos da estrutura porosa sem imersão. Contudo os microporos são menores, devido à deposição de camada.



**Figura 2-35:** Imagem de SEM da estrutura porosa, com vários tempos de imersão em SBF: a) sem imersão, b) 1 hora.

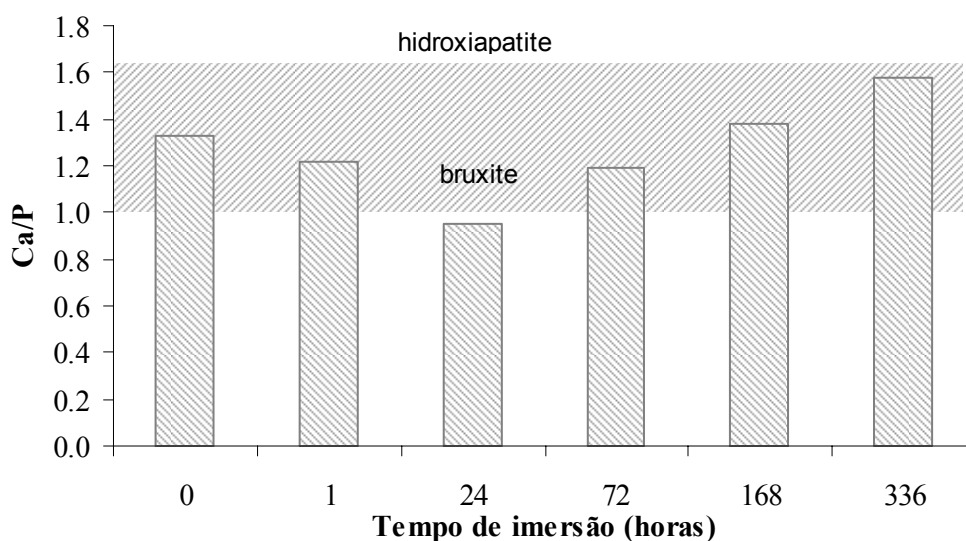


**Figura 3-36:** Imagem de SEM da estrutura porosa, com 3 dias de imersão em SBF, a) ampliação 1000 vezes, b) 10000 vezes.



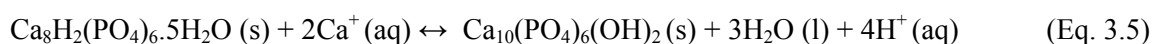
**Figura 3-37:** Imagem de SEM da estrutura porosa, com 14 dias de imersão em SBF, a) ampliação 1000 vezes, b) 10000 vezes.

O resultado da análise por EDS realizada sobre uma pequena área da superfície das amostras após imersão em SBF, sinterizadas a 750 °C com de patamar de 10 minutos, é apresentado na figura 3-38. Verifica-se uma pequena diminuição da relação Ca/P inicial, do vidro original sem imersão (tempo 0 min), de 1.33 para 1.21 na primeira hora de imersão e para 0.95 ao fim de um dia de imersão, provavelmente devido à dissolução de iões a partir da superfície para o meio. A razão Ca/P varia de 1.19 ao fim de 3 dias de imersão para 1.3 ao fim de 7 dias de imersão, aproximando-se de um fosfato octacálcico (OCP),  $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Ca/P}=1.33$ . Este tipo de fosfato de cálcio tem sido referido na literatura como fase precursora da hidroxiapatite na mineralização óssea, devido à sua similaridade e à facilidade com que a OCP se transforma em HA. De facto, através da análise por EDS verifica-se que com 14 dias de imersão, a razão atômica Ca/P se aproxima do valor da hidroxiapatite.

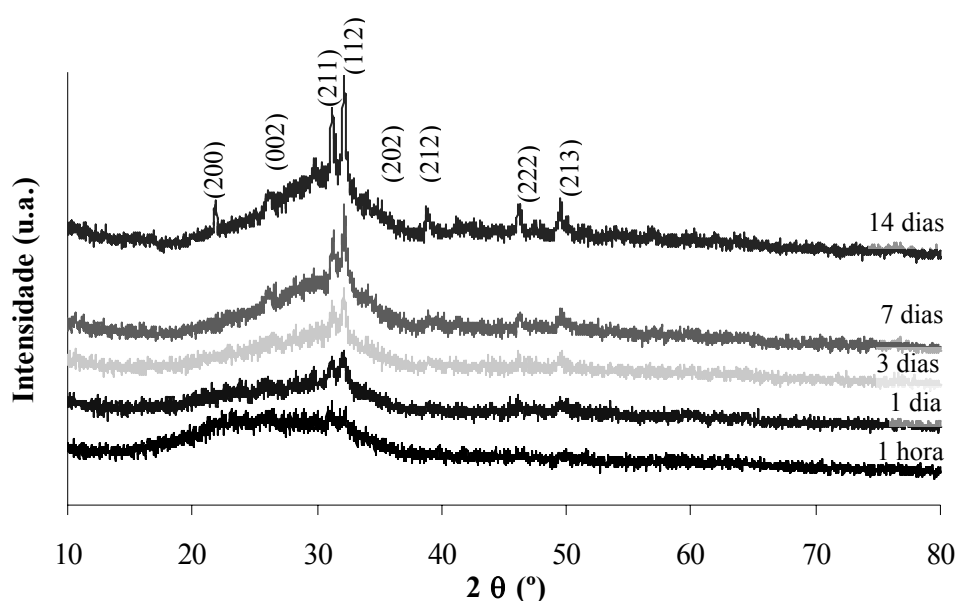


**Figura 3-38:** Evolução da razão Ca/P determinada por EDS, nas amostras após imersão em SBF.

É possível que o aumento do tempo de imersão promova o consumo dos iões de cálcio da solução e a transformação do OCP em hidroxiapatite ( $\text{Ca/P}=1.67$ ), segundo a reacção traduzida pela equação 3.5.



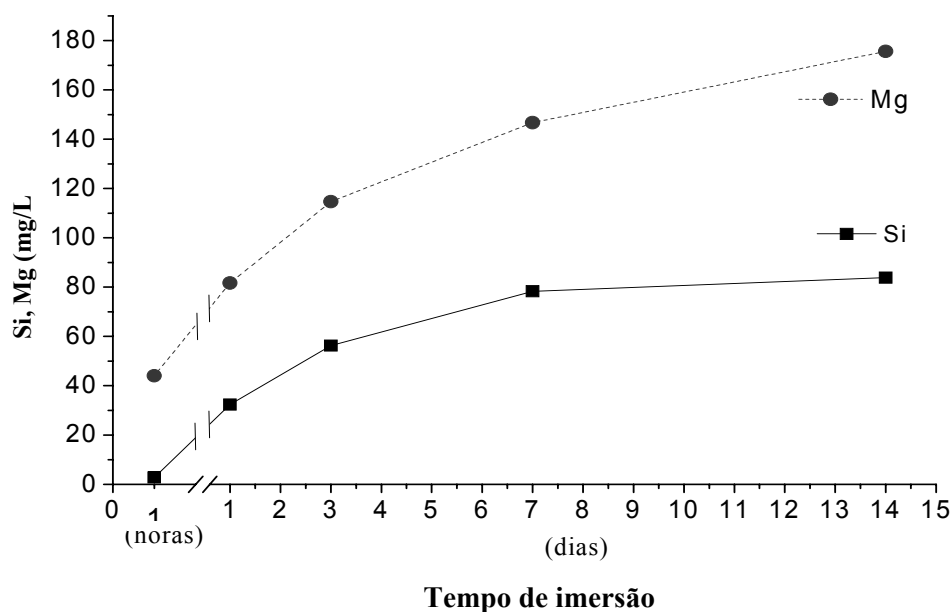
A formação de uma camada de apatite sobre os vidros porosos foi confirmada por DRX. A figura 3-39 apresenta a evolução do difractograma da estrutura porosa com o tempo de imersão em SBF. Após 3 dias de imersão são detectados os picos (211) e (213) característicos da hidroxiapatite embora a sua presença seja ainda apenas incipiente. Com 7 dias de imersão surge também o pico (002), característico da hidroxiapatite, ainda em quantidade pouco significativa. Para 14 dias de imersão observam-se linhas distintas atribuídas todas à hidroxiapatite cristalina. Este resultado está de acordo com as observações em SBF, figura 3-37.



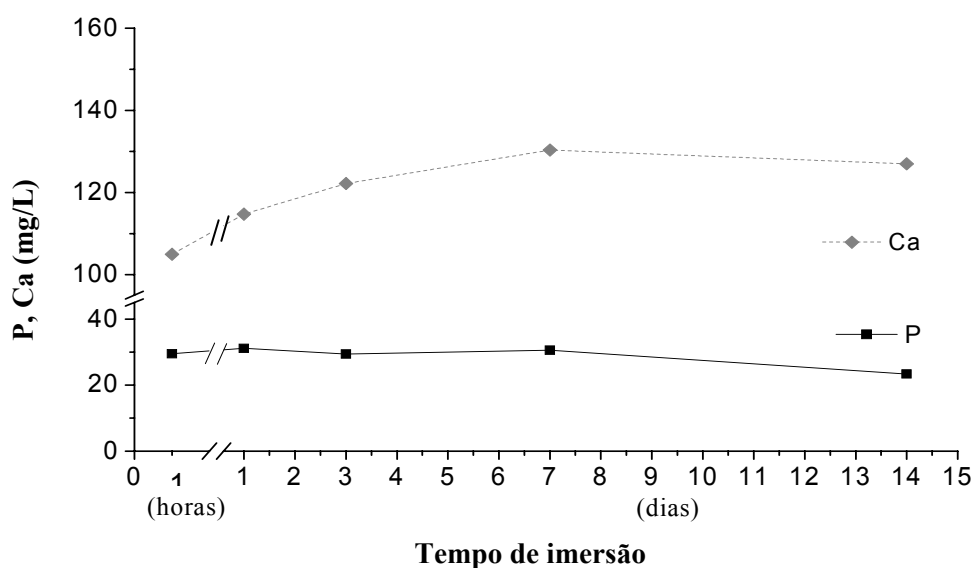
**Figura 3-39:** Difractograma de raios-X da amostra com diferentes tempos de imersão.

### 3.3.2. *Análise de trocas iônicas entre o material e a solução*

A imersão da amostra porosa de vidro em SBF dá origem à dissolução de todos os íons do vidro sendo mais rápida a lixiviação de Si e Mg figura 3-40. A seguir ao período inicial, em que ocorre dissolução de íons de fósforo, observa-se a partir do primeiro dia de imersão a diminuição da concentração deste íon na solução, presumivelmente por precipitação sob a forma de um fosfato de cálcio, à superfície da amostra porosa, o que aliás é sugerido pelas imagens de SEM. Em relação ao cálcio, nos primeiros 5 dias ocorre aumento da sua concentração em SBF, figura 3-41, e após este período verifica-se que a concentração de cálcio estabiliza, o que indica que a dissolução/precipitação da camada apatítica atinge um equilíbrio.



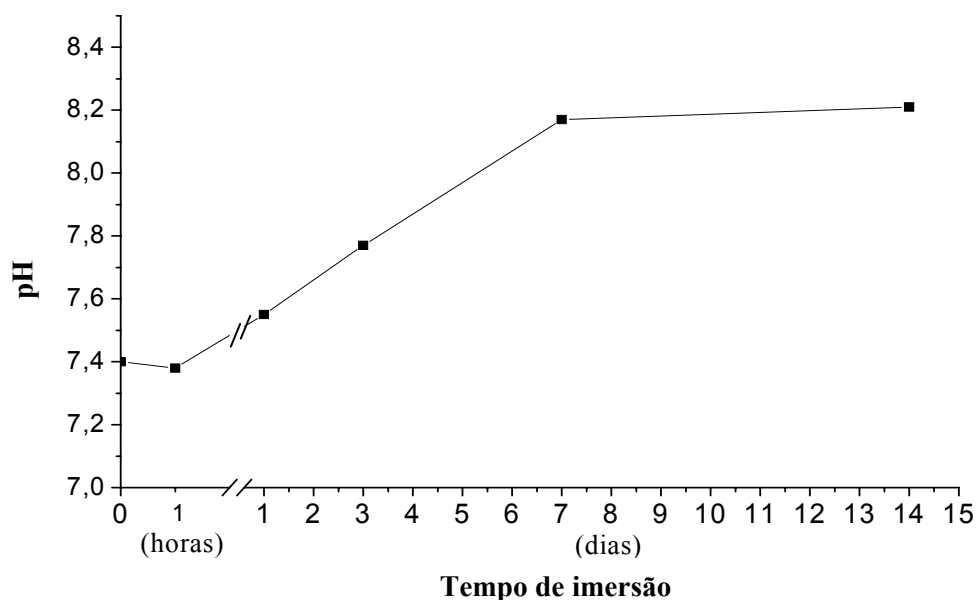
**Figura 3-40:** Variação da concentração elementar da solução de SBF em Si e Mg.



**Figura 3-41:** Variação da concentração elementar da solução de SBF, em Ca e P.

A figura 3-42 apresenta a variação de pH da solução com o tempo de imersão. Na primeira hora de imersão verifica-se uma ligeira diminuição do pH, que tende a aumentar para tempos de imersão superiores. Ao sétimo dia de imersão a solução atingiu um pH de 8.17, o qual tende a estabilizar. O aumento de pH facilita a dissolução da estrutura do vidro e a formação de grupos silanol, assim como a perda da sílica para a solução, responsáveis pelo conjunto de acontecimentos

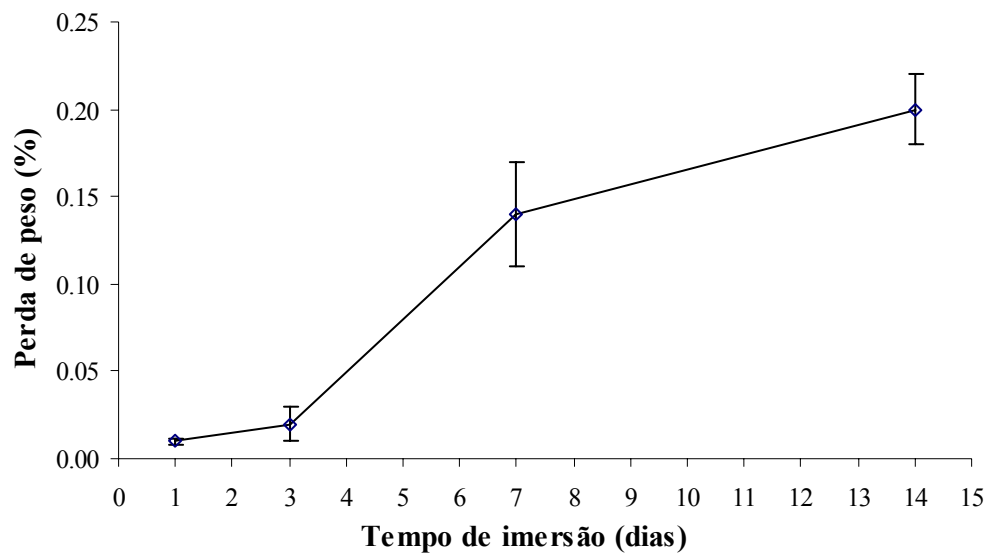
físico-químicos que levam à formação de uma camada de hidroxiapatite carbonatada. A precipitação de HA é aliás favorecida em meios de pH básico.



**Figura 3-42:** Variação dos valores de pH da solução de SBF, após vários tempos de imersão.

A figura 3-43 apresenta a variação do peso das amostras porosas com o tempo de imersão em SBF. O material em estudo apresenta perda de peso ao longo de todo o tempo embora mais acentuada nos primeiros dias. A dissolução dos vários iões do vidro na solução de SBF poderá justificar esta perda de peso que chega apenas a 0.15 %.

A partir do sétimo dia há uma diminuição das perdas, o que pode estar relacionada com a formação da camada apatítica. Para um tempo de 14 dias verifica-se uma perda de peso de 0.20 %.



**Figura 3-43:** Variação da porcentagem de perda de peso em função do tempo de imersão em SBF.

Estes resultados sugerem globalmente que os scaffolds produzidos têm a capacidade de induzir a precipitação de camadas apatíticas características dos materiais potencialmente bioativos mas também sofrem degradação ao longo do tempo, em ambiente fisiológico. Estas características são consideradas como os requisitos mais importantes dos materiais a utilizar em regeneração óssea.





## **IV – CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS**

---



## Conclusões

Apresenta-se de seguida uma sinopse das principais conclusões do trabalho realizado, que incide no desenvolvimento e caracterização de *scaffolds* em vidro, seguindo-se algumas perspectivas relativas à realização de trabalho futuro,

Compactos de misturas de pó de vidro, com tamanho médio de partícula de 20  $\mu\text{m}$ , e NaCl, com granulometria entre 212 e 355  $\mu\text{m}$ , em proporções variáveis entre 10 e 70 % (p/p), sinterizados com velocidade de aquecimento constante de 5  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  até  $\sim 800^{\circ}\text{C}$ , originam, após lixiviação do sal em água, suportes porosos com gamas de porosidade variável entre 34 e 85 %. Para adições de sal iguais ou superiores a 50 %, os espécimes apresentam uma porosidade bastante elevada,  $P \geq 63$  %, e maioritariamente do tipo aberta (a percentagem de porosidade fechada é  $\leq 15$  % da porosidade total). As amostras produzidas com 50 % de sal podem, por isso, representar um bom compromisso entre uma reactividade superficial elevada (que se relaciona com elevada área superficial) sem uma degradação excessiva da resistência mecânica, como é previsível para as estruturas mais porosas, produzidas com quantidades superiores de sal.

Encontraram-se indícios de reacção entre o vidro e o sal durante o aquecimento das misturas, para  $T > 400^{\circ}\text{C}$  nas curva dilatométricas, e que foram investigados. Conquanto a curva de ATD de uma mistura de vidro e sal na proporção 1:1 não mostre picos ou zonas de variação de energia térmica atribuíveis a reacções, os espectros de FTIR da mesma mistura mostram, em amostras tratadas termicamente a  $T > 400^{\circ}\text{C}$ , as bandas respeitantes a ligações Si-O não-ligante, o que pode atribuir-se à desestruturação da superfície do vidro por efeito do Na. A cristalização do fosfato de cálcio também é detectável por DRX e por FTIR na mistura vidro/sal a temperaturas ligeiramente inferiores às do vidro.

O estudo da sinterização nos compactos da mistura de vidro e sal (1:1) mostra que a densificação ocorre numa gama de temperaturas muito reduzida,  $< 100^{\circ}\text{C}$ , e com valores severamente limitados de retracção total, em consequência do efeito das partículas de sal que actuam como inclusões rígidas na matriz vítrea, do efeito da expansão atribuído à reacção entre o vidro e o sal, com libertação gasosa, e à cristalização do vidro. Embora o expoente cinético da retracção no estágio inicial dos compactos seja indicativo de uma densificação por fluxo viscoso entre as partículas de vidro, os valores determinados para a energia de activação aparente apresentam uma forte variação com a temperatura, indicativa da interferência de outro (s) processo (s) na sinterização e atingem valores bastante superiores aos encontrados na densificação do vidro.

Os suportes porosos preparados a partir de uma mistura de 1:1 de vidro e sal e processados em condições seleccionadas a partir de ensaios de prensagem e do estudo cinético da sinterização (prensados a 21 MPa e com um ciclo de sinterização envolvendo aquecimento a 5  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  até 750

°C, seguido de 10 min de patamar a essa temperatura) mostraram, após lixiviação, boas características para a sua utilização como suporte temporário: porosidade total,  $P \geq 63 \%$ , absorção de água, A.A.  $> 55 \%$ , área superficial específica, ASE  $> 10 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ . A distribuição de tamanhos dos poros abertos inclui maioritariamente poros com mais de  $100 \mu\text{m}$ , macroporos, bem distribuídos na matriz e microporos com tamanho inferior a  $10 \mu\text{m}$ . Os suportes apresentam também uma resistência mecânica à compressão média de 1.2 MPa, comparável à do osso trabecular, e bastante superior a outros suportes vítreos porosos, na bibliografia.

Os testes de reactividade superficial realizados por imersão destes suportes em fluido sintético simulado acelular mostram o desenvolvimento de um precipitado apatítico sobre a superfície do material, nos macroporos superficiais, com tendência para obstruir alguns microporos, para tempos de incubação superiores a 7 dias. Este comportamento *in vitro* foi tido como indicador de que os suportes são potencialmente bioactivos, esperando-se que a distribuição de tamanho de poros encontrada possa desempenhar um papel importante na vascularização e crescimento de tecido ósseo, numa situação *in vivo*, particularmente nos casos em que a regeneração é desejável.

### ***Trabalhos Futuros***

Os scaffolds produzidos neste trabalho apresentam potencialidades que justificam a continuidade das pesquisas. A utilização de outros tipos de sais, ou alteração da composição deste vidro poderá permitir obter uma janela de trabalho mais larga e consequentemente a obtenção de scaffolds com maior densificação.

Os estudos efectuados com diferentes percentagens de sal permitiram obter scaffolds com diferentes microestruturas. A investigação das características de reactividade e resistência mecânica dos suportes em função da percentagem de sal é um vasto campo de pesquisa a ser explorado.

Os estudos relativos à nucleação e crescimento cristalino mediante tratamentos térmicos controlados poderão ser desenvolvidos a as estruturas porosas ceramizadas daí resultantes investigadas relativamente ao efeito da microestrutura e fases cristalinas na solubilidade e mineralização.

Os ensaios de mineralização *in vitro*, em fluido fisiológico simulado, permitiram uma avaliação preliminar positiva das potencialidades bioactivas das estruturas porosas desenvolvidas. No entanto para que uma eventual aplicação prática possa ser concretizada na área biomédica, é necessário prosseguir os ensaios de bioactividade em meio celular (*in vitro*), após o que se seguiria a experimentação animal, caso os ensaios anteriormente referidos se verificassem prometedores.



## **V – BIBLIOGRAFIA**

---





### ***Bibliografia***

- [1] J.A. Goulet, L.E. Senunas, G.L. DeSilva, M.L. Greenfield. "Autogenous iliac crest bone graft. Complications and functional assessment". *Clin Orthop.* (1997), 339:76-81.
- [2] E.D. Arrington, W.J. Smith, H.G. Chambers, A.L. Bucknell, N.A. Davino. "Complications of iliac crest bone graft harvesting". *Clin Orthop.* (1996), 329: 300-9.
- [3] R.R. Pelker e G.E. Friedlaender. "Biomechanical aspects of bone autografts and allografts". *Orthop Clin North Am.* (1987), 18:235-239.
- [4] C.A.M. Xavier, e H.L.A. Define. "Uso de enxerto ósseo cortical autólogo no tratamento de lesões ósseas benignas". *Rev. Brás. Ortop.* (1986), 21:120-124.
- [5] W.H. Harris. "Allografting in total hip arthroplasty". *Clin Ortop.* (1982), 162:150-164.
- [6] W.H. Harris, O. Crothers e I. Oh. "Total hip replacement and femoral-head bone-grafting for severe acetabular deficiency in adults". *J Bone Joint Surg [Am]* (1977), 59:752-759.
- [7] M. Jasty e W.H. Harris. "Total hip reconstruction using frozen femoral head allografts in patients with acetabular bone loss". *Orthop Clin North Am.* (1987), 18:291-299.
- [8] R.D. Oakeshott, D.A.F. Morgan, D.J. Zukok, J.F. Rudan, P.J. Brooks e A.E. Gross. "Revision total hip arthroplasty with osseous allograft reconstruction". A clinical and roentgenographic analysis. *Clin Orthop.* (1987), 225:37-61.
- [9] R. Langer e J.P. Vacanti. *Science* (1993), 260(5110):920.
- [10] L.L. Hench. «Bioactive ceramics». In *Bioceramics: materials characteristics versus in vivo behavior*, vol. 523, Ducheyne, P. & Lemmons, J. E. (eds.) - *Annals of the New York Academy of Sciences* (1988), pp. 54-71.
- [11] I.D. Xynos, A.J. Edgar, L.D.K. Buttery, L.L. Hench e J.M. Polak. *Ioc Biop. R.* (2000), 276(2):461.
- [12] V.I. Sikavitsas, J.S. Temenoff, A.G. Mikos. "Biomaterials and bone mechanotransduction". *Biomaterials* (2001), 22:2581-2593.
- [13] J.J. Videau, V. Dupuis. *Eur. J. Solid State Inorg. Chem.* (1991), 28:303.
- [14] L. Meinel, S. Hofmann, V. Karageorgiou. "Engineering cartilage like tissue using human mesenchymal stem cells and silk protein scaffolds". *Biotechnol. Bioeng.* (2004), 88:379-91.
- [15] B. Sharma, J.H. Elisseeff. "Engineering structurally organized cartilage and bone tissues". *Ann Biomed Eng.* (2004), 32:148-59.
- [16] S.P. Bruder, B.S. Fox. "Tissue engineering of bone". *Clin. Orthop. Relat. Res.* (1999), 367S:68-83.

- [17] L.L. Hench, J. Wilson. "An Introduction to bioceramics". World Scientific Publishing Company, 1993.
- [18] D. Baksh, J.E. Davies, «Design Strategies for 3-dimensional in vitro bone growth in tissue engineering scaffold», Davies JE editor, Bone Engineering, Toronto (2000), pp. 488-95.
- [19] M. Mastrogiacomio, S. Scaglione, R. Martinetti, L. Dolcini, F. Beltrame, R. Cancedda e R. Quarto. "Role of scaffold internal structure on in vivo bone formation in macroporous calcium phosphate bioceramics". *Biomaterials* (2006), 27(17):3230-37
- [20] M. Navarro, M.P. Ginebra, J. Clement, S. Martinez, G. Avila, JA. Planell. "Physicochemical degradation of titania-stabilized soluble phosphate glasses for medical applications". *J. Amer. Ceram. Soc.* (2003), 86(8):1345-1352.
- [21] T.M. Freyman, I.V. Yannas and L.J. Gibson. *Prog. Mater. Sci.* (2001), 46:273
- [22] A. Bignon, J. Chevalier, G. Fantozzi, J-P Carret, P. Chavassieux. "Effect of micro- and macroporosity of bone substitutes on their mechanical properties and cellular response". *J. Mater. Sci. Mater. Med.* (2003), 14(12):1089-97.
- [23] V. Olivier, N. Faucheu, P. Hardouin. "Biomaterial challenges and approaches to stem cell use in bone reconstructive surgery". *Drug Discov. Today* (2004), 9:803–11.
- [24] K.A. Hing, B. Annaz, S. Saeed, P.A. Revell, T. Buckland. "Microporosity enhances bioactivity of synthetic bone graft substitutes". *J. Mater. Sci. Mater. Med.* (2005), 16(5):467-75.
- [25] C.E. Holly, M.S. Schoichet, J.E. Davies. "Engineering three dimensional bone tissue in vitro using biodegradable scaffolds". *J. Biomed. Mat. Res.* (2000), 51:376-382.
- [26] T. Kokubo. «A/W glass-ceramic: processing and properties». In: Hench LL, Wilson J, editors. *An introduction to bioceramics*, 2<sup>nd</sup> ed. London: Word Scientific (1999), pp. 75-88
- [27] R. Lange, F. Luthen, U. Beck, J. Rychly, A. Baumann, B. Nobe. *Biomol. Eng.* (2002), 19:255.
- [28] W. He, K.E. Gonsalves, N. Batina, D.B. Poker, E. Alexander. *Biom. Microdev.* (2003), 5:101-108.
- [29] C. Cassineli, M. Morra, G. Bruzzone, A. Carpi, G.D. Santi, R. Giardino, M. Fini. *Int. J. Oral Maxillofac. Impl.* (2003), 18:46.
- [30] A. Gorustovich et al. *Int J. Oral Maxillofac Implants* (2002), 17:644-50
- [31] S.H. Li, J.R. de Wijn, P. Layrolle, K. de Groot. "Synthesis of macroporous hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering". *J. Biomed. Mat. Res.* (2002), 61(1):109-120.
- [32] H.P. Yuan, Z.M. Yang, Y. Li, X.D. Zhang, J.D. de Bruijn, K. de Groot. "Osteoinduction by calcium phosphate biomaterials". *J. Mat. Sci.-Mat. Med.* (1998), 9:723-726.
- [33] J.S. Temenoff, L. Lu, A.G. Mikos. «Bone–tissue engineering using synthetic biodegradable polymer scaffolds». In: J. Davies (Ed.), *Bone Engineering* (2000), pp. 454.

- [34]. Jones, L.M. Rhrenfried, L.L. Hench. "Optimizing bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering". *Biomaterials* (2006), 27:964-973.
- [35] J. Zhao, S. Xiao, X. Lu, J. Wang, J. Weng. "A study on improving mechanical properties of porous HA tissue engineering scaffolds by hot isostatic pressing". *Biomed. Mat.* (2006), 1:188-192.
- [36] X. Lu, Y. Leng. "Theoretical analysis of calcium phosphate precipitation in simulated body fluid". *Biomaterials* (2005), 26:1097-108.
- [37] D.W. Hutmacher. "Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage". *Biomaterials* (2000), 21:2529-2543.
- [38] J.S. Temenoff, A.G. Mikos. "Review: tissue engineering for regeneration of articular cartilage". *Biomaterials* (2000), 21(5):431-440.
- [39] C.T. Laurencin, S.F. Elamin, S.E. Ibim, D.A. Willoughby, M. Attawia e H.R. Allcock . "A highly porous 3-dimensional polyphosphazene polymer matrix for skeletal tissue regeneration". *J. Biomed. Mater. Res.* (1996), 30(2):133-138.
- [40] A. Elghannam, P. Ducheyne, I.M. Shapiro. "Bioactive Material Template for In-Vitro Synthesis of Bone". *J. Biomed. Mater. Res.* (1995), 29(3):359-370.
- [41] A.G. Mikos, G. Sarakinos, S.M. Leite, J.P. Vacanti, R. Langer. "Laminated 3-Dimensional Biodegradable Foams for Use in Tissue Engineering". *Biomaterials* (1993), 14(5):323-330.
- [42] J.S. Temenoff, A.G. Mikos. "Injectable biodegradable materials for orthopedic tissue engineering". *Biomaterials* (2000), 21(23):2405-2412.
- [43] J.E. Gougha, J.R. Jones, and L.L. Hench. "Nodule formation and mineralisation of human primary osteoblasts cultured on a porous bioactive glass scaffold". *Biomaterials* (2004), 25:2039.
- [44] J.R. Jones, E. Gentleman, J. Polak. "Bioactive Glass Scaffolds for Bone Regeneration". *Elements* (2007), 3:393-399.
- [45] L.L. Hench. "Bioceramics: From concept to clinic". *J. Amer Ceram Soc.* (1991), 74(7):1487-1510.
- [46] I.D. Xynos, M.V.J. Hukkanen, J.J. Batten, L.D. Buttery, L.L. Hench, e J.M. Polak. "Bioglass® 45S5 Stimulates Osteoblast Turnover and Enhances Bone Formation *in vitro*: Implications and Applications for Bone Tissue Engineering". *Calcif. Tissue Int.* (2000), 67:321-329.
- [47] I.D. Xynos, A. J. Edgar, L.D.K. Buttery, L.L. Hench e J.M. Polak. "Gene-expression Profiling of Human Osteoblasts Following Treatment with the Ionic Products of Bioglass® 45S5 Dissolution". *J. Biomed. Mater. Res.* (2001), 55:151-157.
- [48] P. Saravanapavan, J. R. Jones, R.S. Pryce, L.L Hench. *J. Biomed. Mater. Res. Part. A* (2003), 66: 110.
- [49] O. Peitl, E. D. Zanotto, L. L. Hench. "Highly bioactive  $P_2O_5$ - $Na_2O$ - $CaO$ - $SiO_2$  glass-ceramic". *J. Non-Cryst. Solids* (2001), 292 :115.

- [50] J.M. Oliveira, R. N. Correia, M. H. Fernandes. "Effect of Si speciation on the in vitro bioactivity o glasses". *Biomaterials* (2002), 23:371-79.
- [51] Y. Ebisawa, T. Kokubo, K. Ohura, T.Yamamuro. *J. Biomed. Mater. Res.* (1990), 1:239.
- [52] J.M. Oliveira, R.N. Correia, M.H. Fernandes. "Surface modification of a glass and a glass-ceramic of the MgO-3CaO.P2O5-SiO2 System in a simulated Body Fluid". *Biomaterials* (1994) 16: 849-854.
- [53] G. Piotrowski, L.L. Hench, W.C. Allen, G.J. Miller. "Mechanical Studies of Bone Bioglass Interfacial Bond". *J. Biomed Mater Res.* (1975), 9(4):47-61.
- [54] L.L. Hench, I.D. Xynos, A.J. Edgar, L.D.K. Buttery, J.M. Polak, «Gene Activating Glasses». In: *Proc. Congre. Glass*, Vol.1. Edinburg, Scotland, 1-6 July, 2001, pp. 226-233.
- [55] A. Elghannam, P. Ducheyne, I.M. Shapiro. "Bioactive Material Template for In-Vitro Synthesis of Bone". *J. Biomed. Mat. Res.* (1995), 29(3):359-370.
- [56] J. Burnie, T. Gilchrist. "Controlled release glasses (C.R.G.) for biomedical uses". *Biomaterials* (1981), 2:244.
- [57] J. Burnie, T. Gilchrist. "Controlled release glass (C.R.G.) a new biomaterial". *Ceramics in Surgery* (1983), 17:169.
- [58] P. Vogel, P. Wange, P. Hartmann. "Phosphate glasses and glass-ceramics for medical applications". *Glasstech Ber Glass Sci Tech.* (1997), 70(7):220.
- [59] D.S. Brauer, C. Russel, J. Craft. "Solubility of glasses in the system P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-CaO-MgO-Na<sub>2</sub>O-TiO<sub>2</sub>: Experimental and modeling using artificial neural networks". *J. non-crystalline solids* (2007), 353:263-270.
- [60] Q.Z Chen, A.R. Boccaccini. "Poly(D,L-lactic acid) coated 45S5 Bioglass-based scaffolds for bone engineering". *J Biomed Mater Res A*, (2006), 27: 445-457.
- [61] R.Z LeGeros, J.P. LeGeros. «Dense hydroxyapatite». In: Hench LL, Wilson J, editors. *An introduction to bioceramics*. 2nd ed. London: Word Scientific; 1999, pp. 139–80.
- [62] H.W. Kim, J.C. Knowles, H.E. Kim. "Hydroxyapatite porous scaffold engineered with biological polymer hybrid coating for antibiotic Vancomycin release". *J Mater Sci: Mater Med* (2005), 16:189–95.
- [63] I. Sevim, M.K. Kulekci. "Abrasive wear behaviour of bio-active glass ceramics containing apatite". *Bull. Mater. Sci.* (2006), 29(3):243–249.
- [64] M. Navarro, S. Del Valle, M.P. Ginebra, S. Martínez, J.A. Planell. "Development of a new calcium phosphate glass ceramic porous scaffold for guided bone regeneration". *Key Eng. Mat.* (2004), 254-256:945-948.
- [65] K.F. Leong, C.M. Cheah, C.K. Chua. "Solid freeform fabrication of three-dimensional scaffolds for engineering replacement tissues and organs". *Biomaterials* (2003), 24:3263-78.
- [66] D.W. Hutmacher. "Scaffolds in Tissue Engineering bone and cartilage". *Biomaterials* (2000), 21:2529-43.

- [67] P. DeAza, Z. Luklinska, C. Santos, F. Guitian, S. DeAza. "Mechanism of bone-like formation and bioactive implant in vivo". *Biomaterials* (2003), 24:1437-45.
- [68] X. Zhu, J. Chen, L. Scheideler, T. Altebaeumer, J. Geis-Gerstorfer e D. Kern. "Cellular reaction of osteoblasts to micron-and submicron-scale porous structures of titanium surfaces". *Cells Tissues Organs* (2004), 178(1):13-22.
- [69] O. Zinger, G. Zhao, Z. Schwartz, J. Simpson, M. Wieland, D. Landolt e B. Boyan. "Differential regulation of osteoblasts by substrate microstructural features". *Biomaterials* (2005), 26(14):1837-47.
- [70] I.A. Silver, J. Deas, e M. Erecinska. "Interactions of Bioactive Glasses with Osteoblasts *in vitro*: Effects of 45S5 Bioglass®, and 58S and 77S Bioactive Glasses on Metabolism, Intracellular Ion Concentrations and Cell Viability". *Biomaterials* (2001), 22:175-185.
- [71] H.P. Yuan, J.D. De Bruijn, X.D Zhang, C.A. Van Blitterswijk, K. de Groot. "Bone induction by porous glass ceramic made from Bioglass (R) (45S5)". *J. Biomed Mat. Res.* (2001), 58(3):270-276.
- [72] C. Tuck, J.R.G. Evans. "Porous ceramics prepared from aqueous foams". *J. Mat. Science Letter* (1999), 18(13):1003-1005.
- [73] W.L. Gong, A. Abdelouas, W. Lutze. "Porous bioactive glass and glass-ceramics made by reaction sintering under pressure". *J. Biomed. Mat. Research* (2001), 54(3):320-327.
- [74] L.D. Harris, B.S. Kim, D.J. Mooney. "Open pore biodegradable matrices formed with gas foaming". *J. Biomed. Mat Research* (1998), 42(3):396-402.
- [75] M. Navarro, S. Del Valle, M.P. Ginebra, S. Martínez, J.A. Planell. "Development of a new calcium phosphate glass ceramic porous scaffold for guided bone regeneration". *Key Eng. Mat.* (2004), 254-256:945-948.
- [76] P. Sepulveda, J.R. Jones, L.L. Hench. "Bioactive sol-gel foams for tissue repair". *J. Biomed. Mater. Research* (2002), 59(2):340-348.
- [77] J.R. Jones, G. Poologasundarampillai, R.C Atwood, D. Bernard P.D. Lee. "Non destructive quantitative 3D analysis for the optimization of tissue scaffolds". *Biomaterials* (2007a), 28:1404-1413.
- [78] J. Vogel, «Porous glasses by a salt sintering process». In: *Porous and special glasses*. Stoch L (ed). *Ceramics 57*. Polish Ceramic Soc., Krakow, 1998, pp. 105-111.
- [79] D.C.Vieira, O.B.G. Assis. "XRD investigation o phases induced by additions of NaCl and MgCO<sub>3</sub> during open-pore glass processing". *J. Mater Sci Lett.* (2000), 19:1975-77.
- [80] W. Liang, C. Russel. "Resorbable, porous glass scaffolds by a salt sintering process". *J. Mater Sci* (2006) 41:3787-3792.
- [81] C. Wang, T. Kasuga, M. Nogami. "Macroporous calcium phosphate glass-ceramic prepared by two-step pressing technique and using sucrose as a pore former". *J Mater Sci.- Mater Med.* (2005), 16:739-744.

- [82] T. Livingston, P. Ducheyne, J. Garino. "In vivo evaluation of a bioactive scaffold for bone tissue engineering". *J. Biomed Mat. Res.* (2002), 62:1-13.
- [83] C.V. Brovarone, E. Verné P Appendino. "Macroporous bioactive glass-ceramic scaffolds for tissue engineering". *J. Mater Sci: Mater Med* (2006) 17:1069-1078.
- [84] N. Li, Q. Jie, S. Zhu, R. Wang. "Preparation and characterization of macroporous sol-gel bioglass". *Ceramic International* (2005), 31:641-646.
- [85] D.C. Clupper, J.E. Gough, P.M. Embanga, I. Notingher, L.L. Hench, M.M. Hall. "Bioactive evaluation of 45S5 bioactive glass fibers and preliminary study of human osteoblast attachment". *J Mater Sci - Mater Med.* (2004), 15(7):803-8.
- [86] E. Pirhonen. "Porous Bioactive 3-D Glass Fiber Scaffolds for Tissue Engineering Applications". *Key Engineering Materials* (2003), 240-242: 237-240.
- [87] W. Gong, A. Abdelouas, W. Lutze. "Porous bioactive glass and glass ceramics made by reaction sintering under pressure". *J. Biomed. Mater. Res.* (2001), 54(3): 320-7.
- [88] G.S. Upadhyaya. "Some issues in sintering science and technology". *Materials Chemistry and Physics* (2001), 67: 1-5
- [89] Y.M. Chiang, D. Birnie III, W.D. Kingery. «Physical Ceramics-Principles for ceramic science and Engineering». Ed. John Wiley & Sons, New York, 1997.
- [90] W.D. Kingery e M. Berg. "Study of the inicial stages of sintering solids by viscous flow, evaporation-condensation and self-diffusion". *J. appl. Phys.* (1995), 26(10),1205-1212.
- [91] H.S. Kim, R.D. Rawlings and P.S. Rogers, *J. Mat. Sci.* (1989), 24:1025-1037.
- [92] R.K. Bordia, R. Raj. "Analysis of sintering of a composite with a glass or ceramic matrix". *J. Am. Cer. Soc.* (1986), 69, C55.
- [93] E.M. Rabinovich. "Review: Preparation of glass by sintering". *J. Mat. Scie.* (1985), 20:4259-4297.
- [94] I.B. Cutler e R.E. Heinrichsen. *J. Am. Ceram. Soc.* (1968), 51:604.
- [95] K.S. Hyung and J-Y So. "Microstructure control of sintered glass-ceramics in silicate system". *J. Ceram. Proc. Res.* (2000), 1(2):96-101.
- [96] A. Karamanov, M. Pelino. "Sinter crystallization in the diopside-albite system Part II. Kinetics of crystallization and sintering". *J Eur. Ceram. Soc.* (2006), 26:2519-2526.
- [97] I.R. Oliveira, A.R. Studart, R.G. Pillegi, V.C. Pandolfelli. «Dispersão e Empacotamento de Partículas: Princípios e Aplicações em Processamento Cerâmico», Fazendo Arte, São Paulo, 2000.
- [98] C. Siligardi, M.C. D'Arrigo, C. Lionelli. "Sintering behavior of glass-ceramic frits". *Amer. Ceram. Soc. Bull.* (2000), 79(9):88-92.
- [99] A.R. Boccaccini, W. Stumpfe, D.M. Rtaplin, C.M. Ponton, *Mater. Sci. Eng. A* (1996), 219:26.
- [100] M.N. Rahaman, L.C. De Jongue, G.W. Scherer, R.J. Brook. "Creep and densification during sintering of glass powder compacts". *J. Am. Ceram. Soc.* (1987), 70(10): 766-774.

- [101] M.N. Rahaman, L.C. De Jongue. "Sintering of spherical glass powder under a uniaxial stress". J. Am. Ceram. Soc. (1990), 73(3):707-712.
- [102] A. Jagota. "Isotropic constitutive model for sintering particle packings". J. Am. Ceram. Soc. (1990) 73, 2266-2273.
- [103] J. Frenkel. "Viscous flow of crystalline bodies under the action of surface tension". J. Phys. (1945), 9(5):385.
- [104] J.K. Mackenzie, R. Shuttleworth. "A Phenomenological Theory of Sintering". Proc. Phys. Soc. (1949), 62(12B):838-852.
- [105] G.W. Scherer. "Sintering of low-density glasses I, Theory". J. Am. Ceram. Soc. (1977), 60(5-6):236-239.
- [106] A.Karamanov and M.Pelino, "Sinter-crystalization in the diopside-albite system. Part II. Kinetics of crystallization and sintering". J.Eur. Ceram. Soc. (2006) 26: 2519-2526.
- [107] D.A Venkatu, D.L. Johnson. "Analysis of sintering equations pertaining to constant rates of heating". J. Amer. Ceram. Soc. (1971), 54:641.
- [108] A.M.O.R. Senos. "Cinética de sinterização nos estágios de porosidade aberta do óxido de Zinco". (1993) Departamento de Cerâmica e do Vidro. Universidade de Aveiro.
- [109] A.E. Shilo, E. K. Bondarev, S. A. Kukharev. "Sintering of Low-Melting Glass Powders and Glass-Abrasive Composites", Science of sintering (2003), 35:117-124
- [110] J-H, Jean, T.K. Gupta. "Liquid-phase sintering in the glass-cordierite system". J. Mat. Sci. (1992), 27:1575-1584.
- [111] N.Bansal, R.H. Doremus. Handbook of glass properties, Academic Press (1986), 223-231.
- [112] A. Costantini, R. Fresa, A. Buri, F. Branda. Thermochim. Acta 280&281 (1996), 237.
- [113] D.C. Clupper, L.L. Hench. "Crystallization kinetics of tape cast bioactive glass 45S5", J. Non-Cryst. Solids (2003), 318: 43-48.
- [114] K. Sujirote, R.D. Rawlings and P.S. Rogers. "Effect of Fluoride on sinterability of a silicate glass powder". J. Eur. Cer. Soc. (1998), 18, 1325-1330.
- [115] D.R. Lide, CRC Handbook of Chemistry and physics (82<sup>nd</sup> ed.). CRC Press, New York, 2001.
- [116] M. Tanahashi, T. Yao, T. Kokubo, M. Minoda, T. Miyamoto, T. Nakamura, Y. Yamamuro. "Apatite coating on organic polymers by a biomimetic process". J. Am. Ceram. Soc. (1994), 77(11): 2805-2808.
- [117] M. Tanahashi, T. Yao, T. Kokubo, M. Minoda, T. Miyamoto, T. Nakamura, Y. Yamamuro. "Apatite coating on organic polymers by a biomimetic process: improvement in its adhesion to substrate by NaOH treatment". J. Applied Biomaterials (1994), 5:339-347.
- [118] G.P. Latorre, L.L. Hench. «Analyses of bioactive glass interfacial reactions using Fourier Transform Infrared Reflection Spectroscopy». In: *Characterization methods for the solid solution interface in ceramic systems*, Ed ACS, 1993.

- [119] J. Vogel, P. Wange, S. Knoche, C. Rüssel, *Glass Sci. Technol.* (2004), 77:82.
- [120] G. Orcel, J. Phalippou e, L.L. Hench. "Structural changes o silica xerogels during low temperature dehydration" *J. Non-Cryst. Solids* (1986), 88(1), 114-130.
- [121] B. Stuart, B. George, P. McIntyre. *Modern Infrared Spectroscopy*, John Wiley & Sons, Inc., London (1996). ISBN:978-0471959175.
- [122] A. Balamurugan et al. *Materials letter* 60 (2006) 3752-3757
- [123] M. Vallet-Regi, A.M. Romero, C.V. Ragel, R.Z. LeGeros. "XRD, SEM-EDS and FTIR studies of in vitro growth of an apatite like layer on sol-gel glasses". *J. Biomed Mater Res.* (1999), 44(4):416-21
- [124] A.A Ammar e D.W. Budworth, "Sintering of sodium chloride". *Proc. Br. Ceram. Soc.* (1965), 3 (10), 185-193.
- [125] H. Takadama, H.M. Kim, T. Kokubo, *et al.* "XPS study of the process of apatite formation on bioactive Ti-6Al-4V alloy in simulated body fluid". *Science and Technology of Advanced Materials* (2001), 2(2): 389-396.
- [126] H. Yuan, K. Kurachina, JD de Bruijin, Y. Li, K. de Groot e X. Zhang. "A preliminary study on the osteoinduction of two kinds of calcium phosphate ceramics." *Biomaterials* (1999), 20(19):1799-806.
- [127] J.R Jones, L.L Hench, "Effect o surfactant concentration and composition on the structure and properties of sol-gel derived bioactive glass foam scaffolds for tissue engineering". *Mat. Sci.* (2003), 38:3783-3790.